

IV Krajowa Konferencja Bioindykacyjna

„Praktyczne wykorzystanie systemów bioindykacyjnych do oceny jakości i toksyczności środowiska i substancji chemicznych”

Olsztyn, 28-30 maja 2014

Streszczenia prezentacji i posterów

Organizatorzy



Gdański Uniwersytet Medyczny
Zakład Toksykologii Środowiska



Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Toksykologii Środowiska
Katedra Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin



Europejskie Regionalne Centrum
Ekohydrologii pod auspicjami UNESCO



TIGRET Sp. z o.o.

Patronat medialny



VISIT...

LANZAROTE
Caliente.COM

Referat wprowadzający – Odporność roślin na stresy środowiskowe - <u>Piotrowicz-Cieślak A.</u> - Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn
Referat wprowadzający - Toksyczność – a cóż to takiego? – <u>Nałęcz-Jawecki G.</u> , Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa
Ekotoksykologiczna charakterystyka gleb narażonych na oddziaływanie zanieczyszczeń węglowodnorodnych z rejonu oddziaływania koksowni - <u>Klimkowicz-Pawlas A.</u> , Smreczak B., Maliszewska-Kordybach B., Ukalska-Jaruga A. - <i>Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa, Puławy</i>
Jakość ścieków oczyszczonych w obrazie parametrów chemicznych i wskaźników bioanalitycznych - <u>Ratajczyk W.</u> , Cieszyńska M., Wolska L. - <i>Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk</i>
Zastosowanie testów toksyczności ostrej do szybkiej oceny stanu środowiska w praktyce WIOŚ Katowice - <u>Duda W.</u> – <i>Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Katowicach, Delegatura w Częstochowie, Częstochowa</i>
Postery– krótkie doniesienia
Ocena mobilności i toksyczności metali ciężkich z zanieczyszczonych osadów dennych przy wykorzystaniu baterii biotestów i ekstrakcji sekwencyjnej - <u>Baran A.</u> , Tarnawski M., Koniarz T. – <i>Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Kraków</i>
Reakcja <i>Heterocypris incongruens</i> na zanieczyszczenia gleb olejem napędowym - <u>Bęś A.</u> , Warmiński K., Błaszczok A. – <i>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn</i>
Ekotoksykologiczna ocena stałej pozostałości z biogazowni – <u>Stefaniuk M.</u> , Oleszczuk P., Różyło K. – <i>Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin</i>
Biowęgle z osadów ściekowych - zawartość WWA, metali ciężkich i ich toksyczność – <u>Zielińska A.</u> , Oleszczuk P. - <i>Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin</i>
Dafnie w ocenie toksyczności ciprofloksacyny i chlorotetracykliny - <u>Baciak M.</u> , Sikorski Ł., Sikora A., Piotrowicz-Cieślak A.I., Adomas B. – <i>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn</i>
Ocena toksyczności 1-alkilo 3 metyloimidazoliowych cieczy jonowych w stosunku do wybranych enzymów glebowych - <u>Telesiński A.</u> – <i>Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny, Szczecin</i>
Toksyczność biowęgla po usunięciu drogą obróbki termicznej Wielopierścieniowych Węglowodorów Aromatycznych - <u>Kołatowski M.</u> , Oleszczuk P. – <i>Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin</i>
Ocena fitotoksyczności pozostałości glifosatu w glebie - <u>Płatkowski M.</u> , Telesiński A. – <i>Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny, Szczecin</i>
Zastosowanie baterii biotestów w klasyfikacji ekotoksykologicznej gleb - <u>Baran A.</u> , Wsiezorek J., Jasiewicz Cz. – <i>Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Kraków</i>
Fitotoksyczność biowęgla otrzymanych z różnych materiałów wyjściowych przy różnej zawartości tlenu w procesie pirolizy – <u>Madej J.</u> , Oleszczuk P. - <i>Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin</i>
Testy na makrofitych – <u>Nałęcz-Jawecki G.</u> , Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa
Biegaczowate (<i>Carabidae</i>) jako bioindykatory stanu środowiska - <u>Banul R.</u> , Kosewska A. – <i>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn</i>
Postery – krótkie doniesienia
Prolina jako wskaźnik stresu w roślinach - <u>Śnioszek M.</u> , Smolik B., Pelc J. – <i>Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny, Szczecin</i>
Monitoring biologiczny starorzeczy Słupi w bezpośrednim sąsiedztwie drogi ekspresowej S-6 (węzeł Kobylnica) - <u>Szynszeczka M.</u> , Obolewski K. – <i>Akademia Pomorska w Słupsku, Słupsk</i>
Ocena wpływu drogi ekspresowej S-6 na stan ekologiczny wybranych starorzeczy Słupi w oparciu o strukturę fauny naroślinnej - <u>Wirkus A.</u> , Obolewski K. – <i>Akademia Pomorska w Słupsku, Słupsk</i>
Klasyfikacja obrazu w monitoringu biologicznym - <u>Pawul M.</u> , <u>Śliwka M.</u> – <i>Akademia Górniczo-Hutnicza, Kraków</i>

Postery – krótkie doniesienia
Wpływ herbicydu Devrinol 450SC na wybrane procesy oksydoredukcyjne w glebie - <u>Onyszko M.</u> , <u>Stręk M.</u> , <u>Telesiński A.</u> – Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny, Szczecin
Określanie rodzaju interakcji pomiędzy oddziaływaniem selenu oraz węglowodorów monoaromatycznych na aktywność oksydazy o-difenolowej w glebie - <u>Stręk M.</u> , <u>Telesiński A.</u> - Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny, Szczecin
Badanie adsorpcji jonów Cr (IV) na biowęglach - <u>Tytlak A.</u> , <u>Oleszczuk P.</u> – Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin
Badania pilotażowe toksyczności pyłu zawieszonego PM10 – <u>Bęś A.</u> , <u>Astel A.</u> , <u>Warmiński K.</u> , <u>Perliński P.</u> – Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn
Zastosowanie biosensorów komórkowych w ekotoksykologii sinic – badania wstępne – <u>Gągala I.</u> , <u>Jaros D.</u> , <u>Krawaciak I.</u> , <u>Jaskulska A.</u> , <u>Kokociński M.</u> , <u>Mankiewicz-Boczek J.</u> , Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii PAN
OVA i PDV – systemy do pomiaru i monitoringu metali w wodzie i glebie – <u>Piętowski G.</u> – TIGRET Sp. z o.o.
Aktualności o biotestach <u>Piętowski G.</u> – TIGRET Sp. z o.o.
Postery – krótkie doniesienia
Wpływ zeolitów na wzrost i rozwój testera biologicznego pieprzycy siewnej <i>Lepidium sativum</i> - <u>Kowalik W.</u> , <u>Pachuta K.</u> , <u>Goszczyńska M.</u> – Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa
Znaczenie peryfitonu porastającego trzcinę w utrzymaniu bioróżnorodności zbiorników wodnych - studium przypadku jeziora Kortowskiego - <u>Borysiuk N.</u> , <u>Obolewski K.</u> - Akademia Pomorska w Słupsku, Słupsk
Badania antybakteryjnych bioszkieł z zastosowaniem testu Ames MPF - <u>Jadczyk P.</u> , <u>Karaś J.</u> , <u>Ciołek L.</u> , <u>Umińska-Wasiluk B.</u> – Politechnika Wrocławska, Wrocław
Ocena genotoksyczności próbek pyłowych zanieczyszczeń powietrza przy pomocy testu Salmonella oraz Ames II - <u>Piekarska K.</u> , <u>Trusz-Zdybek A.</u> , <u>Belcik M.</u> - Politechnika Wrocławska, Wrocław
Wpływ lotnych związków organicznych na aktywność mitochondriów komórek płuc z linii A549 - <u>Chraniuk M.</u> , <u>Ritter D.</u> , <u>Knebel J.</u> , <u>Wolska L.</u> – Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk
Postery – krótkie doniesienia
Wykorzystanie testów enzymatycznych do wyznaczania parametrów modelu DEB dla <i>Daphnia magna</i> - <u>Matyja K.</u> - Politechnika Wrocławska, Wrocław

Streszczenia

prezentacji

Odporność roślin na stresy środowiskowe

M. MARGAS, M. DOBIES, D. RYDZYŃSKI, A. ZIÓŁKOWSKA, A.I. PIOTROWICZ-CIEŚLAK

Katedra Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 1 A, 10-719 Olsztyn

e-mail: acieslak@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: roślina, środowisko, stres abiotyczny

Streszczenie

Celem pracy jest omówienie mechanizmów odporności roślin na stresy środowiskowe. Rośliny w trakcie wzrostu i rozwoju narażone są na różnorodne stresy abiotyczne, wśród których wyróżnić możemy stresy termiczne, wodne, mineralne i wywołane promieniowaniem UW. Dodatkowo, rośliny są narażone na kłęski klimatyczne lub edaficzne tj. późne przymrozki, susza, powódź. Niektóre z tych czynników stresowych mogą znacznie się wahać w intensywności i czasie trwania. Mogą trwać przez kilka godzin, dni, pór roku lub lat, inne mogą zmienić się powoli i stopniowo. W odporności na stresy można wyróżnić wspólne dla wszystkich rodzajów stresu adaptacje roślin obejmujące akumulację białek stresowych (białka szoku termicznego, białka późnej embriogenezy, białka zapobiegające zamarzaniu, dehidryny itp.), akumulację substancji protekcyjnych (kriporrotektanów, osmolitów i antyutleniaczy) i zmiany w gospodarce hormonalnej roślin (ABA, etylen i kwas jasmonowy). Uniwersalnym mechanizmem ochrony tkanek roślinnych przed stresami jest akumulacja antyutleniaczy enzymatycznych i nieenzymatycznych, ponieważ każdemu stresowi działającemu nagle towarzyszy stres oksydacyjny i wybuch tlenowy. Przystosowanie do niekorzystnych warunków środowiska może mieć charakter adaptacji roślin poprzez dostosowanie struktur komórkowych i ich funkcji do przetrwania niekorzystnych czynników środowiska.

Odporność roślin na zanieczyszczenia środowiska wywołane przez człowieka (antropogeniczne) obejmuje przede wszystkim detoksykację SO₂, NO_x, ozonu i metali ciężkich. Mechanizm detoksykacji w roślinach zależy od stężenia metalu w glebie oraz od obecności innych jonów metali. Proces odporności obejmuje detoksykację pobranych metali przez ich usunięcie z miejsc aktywnych do nieaktywnych metabolicznie, zwiększenie syntezy białek wiążących metale (np. z grupami –SH i metalotioneiny) oraz zmianę kierunku procesów metabolicznych zapobiegające włączeniu metali ciężkich do przemian metabolicznych w komórce. Na podstawie właściwości chemicznych i fizycznych wyróżniono trzy mechanizmy molekularne toksyczności metali ciężkich: (a) wytwarzanie reaktywnych form tlenu przez samoutlenianie, (b) blokowanie grup funkcyjnych przez rtęć i kadm, (c) przemieszczenie jonów metali z biocząsteczek do wnętrza komórki roślinnej.

Toksyczność – a cóż to takiego?

G. NAŁĘCZ-JAWECKI

Zakład Badania Środowiska, Warszawski Uniwersytet Medyczny,
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

Słowa kluczowe: toksykologia, ekotoksykologia, toksykologia środowiska, mechanizmy działania

Toksyny i substancje toksyczne towarzyszą ludzkości od wieków. Toksykologia (*gr. toxicon – trucizna, logos – nauka*) zajmowała się początkowo tylko działaniem na człowieka trucizn pochodzenia naturalnego: mineralnego, roślinnego i zwierzęcego. Obserwowano objawy zatruc, poznawano dawki konieczne do spowodowania śmierci, opracowywano odtrutki... Pierwsze prace z toksykologii eksperymentalnej (na zwierzętach) były prowadzone w XVIII wieku [1]. Wraz z nastaniem ery przemysłowej zainteresowanie badaczy przesunęło się na zanieczyszczenia przemysłowe, a także substancje syntetyczne. Powstały nowe działy toksykologii: toksykologia przemysłowa, a następnie – środowiskowa. Oprócz toksyczności ostrej zaczęto analizować toksyczność chroniczną ksenobiotyków.

Znacznie później badacze zwrócili uwagę na inne organizmy żywe – ekotoksykologia jako nauka powstała w połowie XX wieku, chociaż już w sto lat wcześniej badano toksyczność substancji chemicznych dla ryb [2]. Termin ekotoksykologia (*gr. oikos – dom, toxicon – trucizna, logos – nauka*) zaproponowany w 1969 roku przez grupę profesora Rene Truhaut integruje badaczy z różnych dyscyplin: chemii, biologii, biochemii, ekologii i in. Powstają pytania ile wiedzy z klasycznej toksykologii można przenieść do ekotoksykologii. Na ile człowiek jest istotą wyjątkową z toksykologicznego punktu widzenia.

Na wykładzie ukazane będą podstawowe mechanizmy działania toksycznego ksenobiotyków, głównie na poziomie komórki i organizmu, ale również populacji i ekosystemu [3]. Przedstawione będą przykłady substancji toksycznych oraz sposoby analizy ich aktywności biologicznej.

Piśmiennictwo

1. Seńczuk W. [red]. Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2006.
2. Blaise Ch., Ferrard J-F. [eds.]. Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology. Springer, 2014.
3. Rand GM. Fundamentals of Aquatic Toxicology. CRC Press, 1995.

Ekotoksykologiczna charakterystyka gleb narażonych na oddziaływanie zanieczyszczeń węglowodnorodnych z rejonu oddziaływania koksowni

A. KLIMKOWICZ-PAWLAS, B. SMRECZAK, B. MALISZEWSKA-KORDYBACH, A. UKALSKA-JARUGA

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
e-mail: agnes@iung.pulawy.pl

Słowa kluczowe: zagrożenia gleb, zanieczyszczenia chemiczne, WWA, ekotoksyczność

Ochrona środowiska glebowego na obszarze Unii Europejskiej stała się w ostatnich latach zagadnieniem priorytetowym. Podstawowy dokument UE w zakresie ochrony gleb „Strategia tematyczna w dziedzinie ochrony gleby” (COM(2006) 231 final 2006) wskazuje na konieczność zachowania funkcji gleb oraz ich ochrony przed czynnikami powodującymi degradację środowiska glebowego. Wśród głównych zagrożeń dla prawidłowego funkcjonowania gleb zanieczyszczenia odgrywają istotną rolę. Przeważająca część zanieczyszczeń obecnych w środowisku pochodzi ze źródeł antropogenicznych takich jak: emisje przemysłowe, odpady z wydobycia rud metali, transport czy stosowanie osadów ściekowych i środków ochrony roślin w rolnictwie. Zanieczyszczenia emitowane do atmosfery są przenoszone na znaczne odległości i w końcowym etapie większość z nich gromadzi się w glebie, gdzie nawet w niskich stężeniach mogą powodować negatywne skutki nie tylko dla zdrowia człowieka, ale również dla wzrostu i rozwoju wielu grup organizmów żywych. Ocena zagrożeń związanych z zanieczyszczeniem gleb jest często przeprowadzana w oparciu o pomiar całkowitej zawartości związków. Jednak analizy chemiczne nie zawsze dostarczają informacji o szerokiej gamie substancji toksycznych i ich synergistycznych lub antagonistycznych interakcjach. Dlatego też, aby ocenić aktualne ryzyko związane z obecnością zanieczyszczeń analizy chemiczne muszą być uzupełniane o testy ekotoksykologiczne obejmujące organizmy należące do różnych grup troficznych.

Celem badań była ocena ekotoksyczności gleb narażonych na wieloletnie oddziaływanie emisji węglowodorów. Badania przeprowadzono w południowo-zachodniej części Górnośląskiego Okręgu Przemysłowego na terenie zlokalizowanym w pobliżu działającej od 100 lat Koksowni Dąbieńsko (woj. śląskie, powiat rybnicki). Na wytypowanym obszarze około 100 ha wyznaczono 25 punktów badawczych z uwzględnieniem zróżnicowania warunków glebowych oraz bezpośredniego wpływu lokalnych i transgranicznych źródeł emisji zanieczyszczeń. W materiale glebowym wykonano oznaczenia podstawowych właściwości fizykochemicznych i biologicznych oraz zawartości wybranych zanieczyszczeń (metale i WWA).

W celu szczegółowej charakterystyki ekotoksykologicznej zastosowano baterię testów: test hamowania emisji światła przez bakterie luminescencyjne (*Vibrio fischeri*) z wykorzystaniem systemu oceny toksyczności Microtox; test fitotoksyczności Phytotestkit pozwalający ocenić bezpośredni efekt oddziaływania związków chemicznych zawartych w roztworze glebowym na wzrost roślin; test Rapidtoxkit z wykorzystaniem skorupiaków *Thamnocephalus platyurus* oraz skriningowy test kiełkowania nasion sałaty (ISO 17126), oznaczanie oddychania indukowanego (ISO 14240-1) i potencjał nitryfikacji (ISO 15685).

Badania wykazały wzrost ekotoksyczności gleb na obszarze bezpośrednio narażonym na oddziaływanie zanieczyszczeń węglowodorowych. Obszar o podwyższonym ryzyku ekologicznym określono na podstawie wyznaczonych wskaźników toksyczności w oparciu o wyniki zastosowanych testów.

Badania były realizowane w ramach programu wieloletniego IUNG-PIB zadanie 1.2 „Ocena rolniczych i pozarolniczych zagrożeń dla środowiska glebowego oraz opracowanie sposobów usuwania lub ograniczania skutków degradacji gleb na obszarach wiejskich” oraz tematu statutowego 4.10 „Biodostępność i ekotoksykologiczne skutki oddziaływania trwałych zanieczyszczeń organicznych w glebach użytkowanych rolniczo”

Jakość ścieków oczyszczonych w obrazie parametrów chemicznych i wskaźników bioanalitycznych

W. RATAJCZYK¹, M. CIESZYŃSKA¹, L. WOLSKA^{1,2}

¹ Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębowa 23, 80-204 Gdańsk, tel. 58 349 19 37

² Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk
sinclair@gumed.edu.pl

Słowa kluczowe: ekotoksyczność, ścieki surowe, ścieki oczyszczone, mikrobiotesty

Kontrola jakości ścieków w Polsce opiera się na wskaźnikach fizyczno-chemicznych. Ścieki zrzucane z oczyszczalni stanowią mogą istotne zagrożenie dla środowiska, a zatem pośrednio również dla zdrowia człowieka. Jakość ścieków uwalnianych do środowiska charakteryzuje się dużą zmiennością składu i zróżnicowanym poziomem stężeń zanieczyszczeń. Stąd istnieje potrzeba wprowadzania i rozwijania skutecznych wskaźników pozwalających na oszacowanie całkowitego obciążenia próbki substancjami niebezpiecznymi. Metody te opierają się na badaniu odpowiedzi biologicznej organizmów ekspozowanych na badaną próbkę. W niniejszych badaniach jako miarę toksyczności próbki stosowano głównie wskaźnik wzrostu komórek, śmiertelność oraz spadek bioluminescencji.

W ramach realizowanej pracy badawczej poddano analizie próbki ścieków surowych, po I stopniu oczyszczania (mechanicznym) oraz oczyszczonych, po biologicznym etapie oczyszczania. Próbkę pobierane były w dwóch sezonach ciepłym oraz chłodnym/zimowym z oczyszczalni położonych na terenie Zatoki Gdańskiej. Zgodnie z założeniami pracy badawczej w pobieranych próbkach ścieków badano toksyczność wobec kilku organizmów testowych stosowanych w standardowych, komercyjnie dostępnych testach toksyczności ostrej i chronicznej. Próbkę ścieków surowych pobieranych z oczyszczalni ścieków dawały bardzo zróżnicowaną odpowiedź biologiczną w standardowych testach toksyczności ostrej i chronicznej. W każdym jednak przypadku takie same wyniki uzyskiwano dla ścieków po mechanicznym etapie oczyszczania ścieków. Świadczy to tym, że oczyszczanie mechaniczne nie usuwają związków odpowiedzialnych za toksyczność ścieków. Najsilniejszą odpowiedź biologiczną zaobserwowano w przypadku testów Thamnotoxkit F i Daphtoxkit F. Nierozcieńczone ścieki surowe dawały 100% efekt toksyczny powodując całkowitą śmiertelność organizmów testowych. Rozcieńczenie ścieków surowych o 50 % powodowało 100% śmiertelność skorupiaka *Thamnocephalus platyurus*. Na takie rozcieńczenie ścieków surowych różne reagowały skorupiaki *Daphnia magna* - od całkowitego braku odpowiedzi biologicznej do 100% efektu toksycznego. Przeprowadzone badania z zastosowaniem bakterii *Vibrio fischeri* wykazywały wysoką toksyczność ścieków dopływających do oczyszczalni oraz brak efektu toksycznego względem ścieków oczyszczonych. Zarówno w przypadku testów roślinnych (Phytotoxkit F) jak testów wykorzystujących małżoraczkę *Heterocypris incongruens* (Ostracodtoxkit F) zaobserwowana odpowiedź biologiczna jest najniższa. Organizmy te wydają się być najmniej wrażliwe na zanieczyszczenia zawarte w ściekach surowych dostarczanych do oczyszczalni ścieków. Ponadto, zaobserwowano, iż substancje obecne w ściekach stymulują ich wzrost organizmów i ich rozwój. Może to wynikać z odżywczych właściwości ścieków, które dostarczając organizmom substancji biogenicznych są jednocześnie odpowiedzialne za eutrofizację, czyli nadmierny przyrost biomasy organizmów i zubożenie środowiska wodnego w tlen rozpuszczony.

Wszystkie próbki ścieków oczyszczonych, w dowolnych rozcieńczeniach, nie były toksyczne wobec wszystkich zastosowanych organizmów testowych, co wskazuje na to, że proces oczyszczania ścieków w badanych oczyszczalniach prowadzi skutecznie do usunięcia substancji odpowiedzialnych za wysoką toksyczność ścieków dla środowiska i występujących w nim organizmów. Działanie oczyszczalni ścieków prowadzi zatem do całkowitego usunięcia ładunku toksyczności ścieków zrzucanych przez oczyszczalnię do wód powierzchniowych. Jedynie w przypadku testu wykrywania obecności substancji aktywnych hormonalnie YES/YAS uzyskano wynik pozytywny, co wskazuje na obecność tych substancji w ściekach oczyszczonych i niską wydajność ich usuwania w procesie oczyszczania ścieków.

Zastosowanie testów toksyczności ostrej do szybkiej oceny stanu środowiska w praktyce WIOŚ Katowice

WALDEMAR DUDA

Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Katowicach
Pracownia Analiz Manualnych, Instrumentalnych, Hydrobiologicznych
oraz Pomiarów Terenowych i Pobierania Próbek
ul. Rząsawska 24/28, 42-200 Częstochowa
wduda@katowice.pios.gov.pl

Słowa kluczowe: ochrona środowiska, testy toksyczności, pomiar ATP, Vibrio fischeri, Thamnocephalus platyurus.

Zespół Analiz Hydrobiologicznych Pracowni w Częstochowie (Laboratorium WIOŚ w Katowicach) wykonuje testy toksyczności ostrej w celu oceny stanu środowiska, szczególnie w sytuacjach rozpoznawania zagrożenia podczas wystąpienia zatruć środowiskowych. Takie sytuacje wymagają szybkiego zbadania zagrożonego środowiska, aby w razie potwierdzenia zatrucia móc podjąć działania zaradcze, polegające na przykład na zapobieganiu rozprzestrzeniania się szkodliwych substancji oraz usunięciu ich z miejsca zdarzenia. Badania biologiczne w postaci testów toksyczności są w takich sytuacjach cennym uzupełnieniem metod chemii analitycznej, ponieważ bezpośrednio wskazują na możliwość zagrożenia dla organizmów żywych, w tym również dla ludzi oraz umożliwiają kompleksową ocenę toksyczności wszystkich składników badanego środowiska.

Testy są wykonywane za pomocą gotowych, możliwych do szybkiego użycia zestawów organizmów. Pierwszym, stosowanym już od wielu lat testem jest RAPIDTOXKIT – test na ożywianych z jaj przetrwalnikowych larwach skorupiaka *Thamnocephalus platyurus*. Jest to test na zahamowanie przyjmowania pokarmu, w przypadku wystąpienia substancji szkodliwej w próbce. Jest to test bardzo miarodajny dla oceny toksyczności w stosunku do kręgowców, a więc dla ryb oraz potencjalnie również dla ludzi.

Obecnie stosowany jest dodatkowo zestaw testu bakteryjnego TOXI-SCREENING, przy użyciu bakterii *Vibrio fischeri* (dawna nazwa: *Photobacterium phosphoreum*). Są to tzw. bakterie luminescencyjne, czyli świeące. Światło powstaje podczas procesów przemiany materii w komórkach tych bakterii. Dlatego mierząc za pomocą fotometru intensywność tego świecenia, możemy ocenić ewentualne wystąpienie spadku luminescencji w stosunku do próbki kontrolnej, co wskazuje na wystąpienie w próbce substancji toksycznej.

Dodatkowo, miernik ten umożliwia szybkie oszacowanie ilości biomasy w badanej próbce – test ATP BACTERIAL CONTAMINATION SCREENING. Dzięki temu można stwierdzić, czy ilość biomasy mieści się w zakresach typowych dla środowiska naturalnego, czy jest podwyższona z powodu na przykład przedostania się do badanej wody ścieków wraz z obecnymi w nich mikroorganizmami, lub też przeciwnie – w wypadku stwierdzenia zerowej wartości biomasy w wodzie bądź glebie – stwierdzenie całkowitego zatrucia wszystkich organizmów. Test ten polega na pomiarze ilości charakterystycznych dla każdego żywego organizmu cząsteczek wysokoenergetycznego ATP podczas jego rozpadu, czemu towarzyszy uwalnianie fotonów, a więc świecenie.

Często najlepszy, najbardziej miarodajny wynik daje zastosowanie całego zestawu powyższych testów.

W praktycznej działalności Laboratorium WIOŚ w Katowicach - Pracownia Analiz w Częstochowie, testy te przyczyniły się już do oceny wielu wypadków zatruć środowiskowych. Opierając się na tych doświadczeniach, mogę stwierdzić, że stosowanie biotestów wykorzystujących kryptobiotyczne (przetrwalnikowe) formy organizmów testowych powinno być powszechną praktyką w działalności monitoringowej i ochroniarskiej.

Biotesty na makrofitach

G. NAŁĘCZ-JAWECKI

Zakład Badania Środowiska, Warszawski Uniwersytet Medyczny,
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

Słowa kluczowe: Lemna, Spirodela, test chroniczny, zalecenia OECD

Rzęsa drobna *Lemna minor* oraz garbata *L. gibba* są od wielu lat stosowane w ekotoksykologii jako przedstawiciele pływających makrofitów. Są zalecane przez organizacje międzynarodowe w badaniach substancji chemicznych, przede wszystkim herbicydów (regulacja Unii Europejskiej Reg EC N 1107/2009). Klasyczny biotest *Lemna* jest 6-dniowym testem chronicznym opartym na obserwacji wzrostu roślin przez 7 dni [1]. Wzrost może być oceniany na podstawie pomiaru różnych parametrów, z których najczęściej stosowanymi są liczba frondów i ich powierzchnia. Pula obserwowanych reakcji testowych może być rozszerzona, ale, zgodnie z zaleceniami OECD oprócz analizy liczby frondów, przynajmniej jeden parametr powinien być mierzony: powierzchnia frondów, ich świeża bądź sucha masa. Test może być prowadzony w formie statycznej (bez wymiany wody) lub w układzie semi-statycznym z okresową wymianą badanych roztworów co 1-2 dni [2].

W ostatnich latach powstało wiele modyfikacji testu *Lemna* dotyczących zarówno warunków prowadzenia testu (naczyni testowych), jak i rozszerzenia puli mierzonych efektów testowych. W naszym laboratorium opracowaliśmy wersję miniaturową testu z zastosowaniem 6-dołkowych mikroplatek [3]. Oprócz morfologicznych parametrów oceny wzrostu roślin, analizujemy parametry biochemiczne – aktywność wybranych enzymów oksydacyjnych (katalazy i peroksydazy).

Z uwagi na wysoką zmienność roślin z rodzaju *Lemna* oraz występowanie wielu fenotypów, zalecane jest okresowe prowadzenie analiz toksyczności substancji standardowych, wg OECD – roztworów KCl oraz 3,5-dichlorofenolu.

Rośliny z rodzaju *Spirodela* są makrofitami charakteryzującymi się szybszym wzrostem od *Lemna*. Są jednak stosowane w ekotoksykologii znacznie rzadziej. Grupa prof. Guido Persoone opracowała i zwalidowała nowy Toxkit oparty na gatunku *S. polyrhiza*. Jak we wszystkich pakietach organizmy sprzedawane są w formie przetrwanej – co umożliwia rezygnację z prowadzenia hodowli organizmów.

W porównaniach międzylaboratoryjnych, które odbyły się na początku 2014 roku wzięło udział 57 laboratoriów z 22 krajów, z czego kilkanaście ośrodków z Polski. Świadczy to o dużym zainteresowaniu nowym biotestem. W prezentacji ukazane zostaną podobieństwa i różnice między testami opartymi na makrofitach *Lemna* i *Spirodela*, a także metody oceny reakcji testowych.

Piśmiennictwo

1. OECD 221. OECD guidelines for the testing of chemicals. *Lemna* sp. Growth Inhibition Test.
2. Brian RA., Johnson DJ., Richards SM., Sanderson H., Sibley PK., Solomon KR. 2004. Effects of 25 pharmaceutical compounds to *Lemna gibba* using a seven-day static-renewal test. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(2):371-382.
3. Kaza M., Nałęcz-Jawecki G., Sawicki J. 2007. The toxicity of selected pharmaceutical to the aquatic plant *Lemna minor*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 16(5):524-531.

Biegaczowate (Carabidae) jako bioindykatory stanu środowiska na przykładzie lasu świeżego.

BANUL R.¹, KOSEWSKA A.²

¹ Katedra Leśnictwa i Ekologii Lasu, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Pl. Łódzki 2, 10-727 Olsztyn.

E-mail: rafal.banul@uwm.edu.pl

² Katedra Fitopatologii i Entomologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Prawocheńskiego 17, 10-721 Olsztyn.

E-mail: a.kosewska@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: zooindykacja, biegaczowate (*Carabidae*), las świeży

Wykorzystanie organizmów żywych, podatnych na wszelkie zmiany w środowisku, jest głównym aspektem badań bioindykacyjnych stanu środowiska. Do takich organizmów wykazujących wysoką wrażliwość na działanie czynników zewnętrznych, zakłócających stan ich środowiska życia, należą chrząszcze z rodziny biegaczowatych (Col. Carabidae). Stanowią one nieodzowny element badań przyrodniczych nad wpływem na środowisko czynników abiotycznych, biotycznych, a także antropogenicznych.

Badania prowadzono na terenie Nadleśnictwa Wipsowo (płn–wsch Polska). Wybrano jeden typ siedliskowy lasu – las świeży. Głównym gatunkiem lasotwórczym jest buk (*Fagus sylvatica*) w wieku ok. 100 lat. Wytypowano trzy powierzchnie badawcze, na których założono po 10 pułapek Barbera, do których odławiano biegaczowate. Pułapki były usytuowane co 20 metrów.

W wyniku przeprowadzonych badań odłowiono 3731 osobników należących do 35 gatunków biegaczowatych. Wszystkie trzy obiekty badawcze były podobne do siebie pod względem składu gatunkowego Carabidae. Gatunkami dominującymi w badanym zgrupowaniu były: *Pterostichus niger*, *Carabus hortensis* i *Pterostichus oblongopunctatus*. Analiza ekologiczna odłowionych biegaczowatych wykazała przewagę nad innymi grupami leśnych Carabidae o jesiennym typie rozwoju i umiarkowanych hygropreferencjach, zarówno w aspekcie ilościowym, jak też w jakościowym. Struktura troficzna ukazała dominację dużych zoofagów w aspekcie ilościowym, natomiast w aspekcie jakościowym pojawiło się równie dużo biegaczowatych należących do średnich zoofagów.

Występowanie dużych leśnych biegaczowatych i ich przewaga nad pozostałymi grupami ekologicznymi świadczy o stabilności i dobrej kondycji badanych siedlisk.

Zastosowanie biosensorów komórkowych w ekotoksykologii sinic - badania wstępne

**I. GAŁA^a, D. JAROS^b, I. KARWACIAK^b, A. JASKULSKA^{a,c}, M. KOKOCIŃSKI^d, Ł.
PUŁASKI^b, J. MANKIEWICZ-BOCZEK^{a,c}**

^aEuropejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii PAN, ul. Tylna 3, 90-364 Łódź, Polska

^bInstytut Biologii Medycznej PAN, ul. Lodowa 106, 93-232 Łódź, Polska

^cKatedra Ekologii Stosowanej, Wydział Biologii i Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul.
Banacha 12/16, 90-237 Łódź, Polska

^dZakład Hydrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Adama Mickiewicza, ul. Umultowska
89,61 - 614 Poznań, Polska

e-mail: ilonagagala@erce.unesco.lodz.pl

*Słowa kluczowe: ekstrakty sinicowe, mikrocystyny, aktywność biologiczna, biosensory
komórkowe, geny reporterowe, immunotoksyczność*

Toksyczne zakwity wody z udziałem sinic są problemem o zasięgu globalnym, związanym ze wzrostem emisji substancji biogennych do wód oraz antropogeniczną modyfikacją cykli biogeochemicznych. Dotychczas uwaga naukowców koncentrowała się na głównych, dobrze poznanych grupach toksyn sinicowych (hepato-, neuro- oraz cytotoksynach). Jednak nasze dotychczasowe wyniki oraz doniesienia literaturowe wskazują, że z pewnością nie są to jedyne aktywne biologicznie metabolity sinic, które mogą mieć niekorzystne działanie ekotoksykologiczne. Dlatego też głównym celem badań realizowanych m.in. w projekcie *Zastosowanie komórkowych biosensorów reporterowych w ekotoksykologii sinic: nowe „tarcze” dla bioaktywności* (NCN, UMO-2012/07/B/NZ8/03991) jest wykorzystanie innowacyjnego narzędzia analitycznego - biosensorów komórkowych - do identyfikacji na poziomie molekularnym bioaktywnych czynników produkowanych przez różne gatunki sinic tworzące zakwity wody. Hipoteza postawiona w oparciu o pilotażowe badania, zakłada, że w zakwicie sinicowym istnieją czynniki toksyczne, które przy odpowiednich warunkach mogą stwarzać dodatkowe lub nawet większe zagrożenie dla organizmów niż dotychczas znane grupy toksyn sinicowych.

Do wstępnych badań został wykorzystany materiał sinicowy pobrany ze Zbiornika Sulejowskiego oraz z jeziora Pniewskiego w roku 2013. Próbkę różniły się między sobą składem gatunkowym sinic. Łącznie porównywano trzy warianty próbek: 1) zakwit z *Microcystis aeruginosa* (90%) i *Pseudanabaena* sp. (10%); 2) zakwit z *M. aeruginosa* (79%), *Aphanizomenon flos-aque* (12%) i *Pseudanabaena* sp. (9%), oraz 3) zakwit z *Aphanizomenon gracile* (72%), *Cylindrospermopsis raciborskii* (16%) i *Chrysosporum bergii* (12%). Ponadto wykorzystano w badaniach hodowle *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 i *Aphanizomenon flos-aque* NIVA CYA 626 oraz standard mikrocystyny-LR. Jako biosensory komórkowe wykorzystano stabilnie zmodyfikowane genetycznie linie komórkowe, w których geny kodujące łatwe do oznaczenia białka receptorowe (w tym przypadku lucyferazę) znajdują się pod kontrolą regulatorowych sekwencji DNA. Wybrano biosensory komórkowe wrażliwe na aktywację ważnych z toksykologicznego punktu widzenia szlaków przekazywania sygnału związanych z czynnikami transkrypcyjnymi NFκB, Nrf2 oraz AhR. Komórki biosensorów współinkubowane były z w/w materiałem sinicowym lub standardem mikrocystyny-LR. W celu oceny aktywności biosensorów zastosowano odczyt luminometryczny.

Wstępne wyniki badań zmian aktywności transkrypcyjnej wybranych biosensorów komórkowych pokazały zróżnicowaną odpowiedź receptorów na działanie próbek środowiskowych oraz hodowli cyjanobakterii. Wstępne wyniki wskazują na możliwość oraz

potrzebę opracowania właściwego narzędzia, które w łatwy sposób pozwoli na ocenę kompleksowego zagrożenia dla środowiska ze strony złożonych mieszanin jakimi są zakwity sinicowe, bez potrzeby wydzielania z nich poszczególnych metabolitów oraz kompartmentów komórkowych.

Badania finansowane w ramach projektu NCN - UMO-2012/07/B/NZ8/03991 „Zastosowanie komórkowych biosensorów reporterowych w ekotoksykologii sinic: nowe ‘tarcze’ dla bioaktywności”

OVA i PDV – systemy do pomiaru i monitoringu metali w wodzie i glebie

A. WHITTAKER¹, G. PIETOWSKI²

¹ Modern Water Monitoring Ltd., Bramley House, The Guildway, Old Portsmouth Road,
Guildford, Surrey GU3 ILR, UK

² TIGRET Sp. z o.o., ul. Warszawska 27, 02-495 Warszawa, Tel. 22 8670528

gp@tigret.eu

Słowa kluczowe: monitoring metali, woltametria.

Dopuszczalne poziomy stężenie metali w wodzie do spożycia i ściekach są określone w odpowiednich rozporządzeniach. Stosowane najczęściej metody laboratoryjne (ICP i AA) są kosztowne i nie pozwalają uzyskać wyniku w układzie on-line. Ze względu na koszty, możliwe oszczędności i wyniki w czasie rzeczywistym stosowane są również metody woltametryczne. Dostępne rozwiązania umożliwiają pomiar i monitoring metali w wodzie do spożycia, ściekach i glebie. Wykazują bardzo dużą (>90%) korelację wyników z metodami laboratoryjnymi, przy poziomach oznaczeń znacząco niższych niż limity określone w rozporządzeniach oraz dużą odporność na zakłócenia.

Dostępne są dwa systemy:

OVA

- system on-line 24/7
- niskie poziomy wykrywania (0,5 µg/l) – standardy WHO
- programowany dla różnych metali i próbek
- możliwość wpięcia w zakładowy system kontroli w celu sterowania dozowaniem koagulantów

PDV

- system przenośny i laboratoryjny
- szybkie wyniki na poziomie poniżej µg/l
- dla próbek wody i gleby

Przy zastosowaniu różnego typu elektrod systemy umożliwiają oznaczanie następujących metali: Ag, As, As (III), Au, Bi, Cd, Co, Cr, Cr (VI), Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Sb (III), Se (IV), Sn, Te, Tl, U, Zn.

Systemy mogą być stosowane w przemysle (korzyści: duże oszczędności w obszarze zużycia preparatów, natychmiast widoczne efekty, zmniejszenie ryzyka przekroczenia dopuszczalnych limitów, brak kar finansowych, ochrona marki, zmniejszenie zatrudnienia), monitoringu środowiska (korzyści: niskie poziomy detekcji – spełnia wymagania rozporządzeń, przenośny, możliwość analizy w odległych lokalizacjach, wykrywanie źródła skażenia i określanie obszaru skażenia, ochrona środowiska, ochrona zdrowia ludzi), badaniach naukowych (korzyści: prawdziwe wyniki na poziomach ppb lub sub-ppb, pełny zakres metali włączając metale rzadko występujące np. uran, niskie koszty, łatwa obsługa i szybkie wyniki, wspomaganie dla oceny ekotoksykologicznej).

Metody woltametryczne do pomiaru metali są ujęte w normach US EPA, DIN oraz metodach referencyjnych EU.

Badania antybakteryjnych bioszkieł z zastosowaniem testu Ames MPF

PIOTR JADCZYK*, BARBARA UMIŃSKA-WASILUK*,
JOANNA KARAŚ**, LIDIA CIOŁEK**

*Instytut Inżynierii Ochrony Środowiska, Politechnika Wrocławska,
ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

**Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych,
ul. Postępu 9, 02-676 Warszawa

e-mail autora prezentującego: piotr.jadczyk@pwr.edu.pl

Słowa kluczowe: Salmonella typhimurium, genotoksyczność, mutagenność, test krótkoterminowy bioszkieł, srebro, periodontologia

Biotesty coraz powszechniej stosowane są w monitoringu zanieczyszczeń środowiska. Drugim ważnym kierunkiem badań z ich wykorzystaniem jest określanie niektórych właściwości nowych substancji, które w perspektywie mogą znaleźć zastosowanie w medycynie jako składniki produktów leczniczych albo wyroby medyczne np jako materiały alloplastyczne. Pozwala to uniknąć klinicznego zastosowania preparatów wykazujących np. genotoksyczność, a przez to chronić zdrowie pacjentów oraz zapobiec wprowadzaniu ich pozostałości do środowiska.

Badaniom biologicznym podlegają wszystkie opracowane biomateriały przewidziane do terapeutycznego zastosowania jako wyroby medyczne. Do tej grupy biomateriałów należą opracowane w ICI MB, z przeznaczeniem do zastosowań medycznych, bioszkieł aktywne przeciwbakteryjnie z uwagi na uwalnianie jonów srebra. Powodem podjęcia realizacji prac badawczych była potrzeba wprowadzenia do klinicznego stosowania nowych, bardziej wszechstronnych preparatów dla wypełniania ubytków kostnych z powodu powszechności występowania chorób przyzębia prowadzących do tworzenia kieszonek, recesji dziąsła i utraty kości. Agresywną postać choroby leczy się stosując antybiotykoterapię. W najbardziej zaawansowanej fazie konieczna jest natomiast regeneracja tkanki kostnej metodami chirurgicznymi. Obecnie do wypełniania ubytków kostnych w chorobach przyzębia stosuje się m.in. granule "Biogran" otrzymywane z bioaktywnego szkła opracowanego przez Hencha. "Biogran" wpływa na zwiększoną proliferację osteoblastów, ale nie oddziałuje antybakteryjnie.

Dlatego uznano, że celowe byłoby opracowanie sposobu wytwarzania bioszkieł do wypełniania ubytków kostnych w leczeniu chirurgicznym chorób przyzębia posiadających właściwości przeciwbakteryjne. Do wytworzenia nanoproszków o założonych właściwościach wybrano metodę syntezy zol-żel z uwagi na fakt, że materiały pochodzenia żelowego wykazują większą aktywność biologiczną, niż bioszkieł uzyskane metodą wysokotemperaturową.

W rezultacie przeprowadzonych prac wytworzono szereg bioszkieł aktywnych przeciwbakteryjnie, z których do badań genotoksyczności wytypowano trzy bioszkieł. zawierające w składzie srebro oddziałujące bakteriobójczo, które mogłyby znaleźć zastosowanie w leczeniu zaawansowanych chorób przyzębia i które należało poddać ocenie biologicznej.

Jednym z jej aspektów było określenie potencjalnej genotoksyczności otrzymanych bioszkieł z zastosowaniem mikropłytkowego testu Ames. Do tej fazy badań wytypowane zostały z uwagi na nietoksyczność i najwyższe działanie przeciwbakteryjne dwa bioszkieł glinokrzemianowe o symbolach Z-5 i Z-8 oraz jedno wapniowokrzemianowe o symbolu B-I.

Zgodnie z zaleceniami PN-EN ISO 10933-12 bioszkieł ekstrahowano w dimetylosulfotlenku (DMSO), wytrząsając (250 rpm) przez 72h w temperaturze 37°C.

Genotoksyczność badano mikropłytkowym testem Amesa firmy Xenometrix by Endotell. Próbkę wprowadzano do testu w postaci roztworów w DMSO o stężeniu 0,125-4,8 mg/ml. Organizmami testowymi były szczepy *Salmonella typhimurium* TA98 i TA100 nie posiadające zdolności wytwarzania histydyny. Szczep TA98 pozwala na wykrywanie mutacji zmiany fazy odczytu, szczep TA100 mutacji typu podstawiania par zasad. Wykonanie testu w dwóch wariantach: bez i z aktywacją metaboliczną frakcją S9 pozwoliło na wykrycie aktywności mutagenów bezpośrednich i pośrednich. Stosowana była 30% frakcja otrzymana z wątroby szczurów aktywowana Aroclorem 1254. Wynik uznawano za dodatni, gdy liczba rewertantów była co najmniej trzykrotnie większa niż w kontroli. Statystyczną istotność różnic badano jednostronnym testem t-Studenta przy $p=0,05$, obliczenia wykonywano za pomocą arkusza Excel dostarczonego przez producenta testu.

Bioszkło BI wykazywało aktywność mutagenną wobec szczepu TA100 z aktywacją metaboliczną frakcją S9 (liczba rewertantów do 3,9 razy większa niż w kontroli), nie wykazywało aktywności mutagennej wobec szczepu TA100 bez aktywacji metabolicznej ani wobec szczepu TA98 bez i z aktywacją metaboliczną. Pozwala to wnioskować, że bioszkło BI zawierało mutageny pośrednie powodujące powstawanie mutacji podstawiania par zasad na wykrywanie których pozwala szczep TA100. Nie zawierało ono mutagenów bezpośrednich powodujących powstawanie mutacji podstawiania par zasad ani mutagenów bezpośrednich i pośrednich powodujących powstawanie mutacji zmiany fazy odczytu, na wykrywanie których pozwala szczep TA98.

Z-5 i Z-8 nie wykazywały aktywności mutagennej wobec obu zastosowanych szczepów testowych *Salmonella typhimurium* bez i z aktywacją metaboliczną frakcją S9 w badanym zakresie stężeń. Pozwala to wnioskować, że bioszklą Z-5 i Z-8 nie zawierały mutagenów bezpośrednich ani pośrednich powodujących powstawanie mutacji zmiany fazy odczytu i podstawiania par zasad na wykrywanie których pozwalają szczepy *Salmonella typhimurium* TA 98 i TA 100. Uzyskane wyniki pozwoliły na rekomendowanie bioszkieł Z-5 i Z-8 do dalszych badań poprzedzających ich kliniczne zastosowanie. Wyniki prezentowanych badań wraz z wynikami pozostałych badań biologicznych stanowią podstawę do przeprowadzenia badań klinicznych po uzyskaniu środków finansowych i zgody Komisji Bioetycznej.

Ocena genotoksyczności próbek pyłowych zanieczyszczeń powietrza przy pomocy testu *Salmonella* oraz Ames II

M.K. BEŁCIK, A. TRUSZ-ZDYBEK, K. PIEKARSKA
Instytut Inżynierii Ochrony Środowiska Politechniki Wrocławskiej,
pl. Grunwaldzki 9, 50-377 Wrocław
katarzyna.piekarska@pwr.edu.pl

Słowa kluczowe: genotoksyczność, test Ames II, test Salmonella, zanieczyszczenia pyłowe powietrza atmosferycznego, frakcja PM 2,5.

Wraz z rozwojem nowych technologii i działaniem człowieka, grupą społeczną narażoną na pyłowe zanieczyszczenia powietrza są już nie tylko osoby pracujące w zawodach ryzyka takich jak zakłady przemysłowe czy kopalnie gdzie występuje duże zapylenie powietrza. Coraz większym zagrożeniem staje się życie w regionach uprzemysłowionych ze względu na pył emitowany do atmosfery przez zakłady przemysłowe oraz transport samochodowy. Ponadto, dużym problemem, ze względu na brak kontroli, są nieorganizowane źródła emisji pyłów takie jak indywidualne piece węglowe w częściach miast niepodłączonych miejskiej sieci ciepłowniczej.

Wśród chorób wywoływanych przez narażenie na pyłowe zanieczyszczenia powietrza najczęściej wymienia się takie jak: alergie, problemy z układem oddechowym, w tym astmę, niedobór odporności, a w dalszej perspektywie także nowotwory. To z tego względu stężenie pyłów zawartych w powietrzu w wielu krajach jest stale monitorowane, a regulacje prawne określają dopuszczalne ich stężenie w powietrzu. W Polskim ustawodawstwie dokumentem, który określa dopuszczalne normy pyłu zawieszonego jest dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady Europy 2008/50/WE z dnia 21 maja 2008 roku w sprawie jakości powietrza i czystszej powietrza dla Europy. Obecnie pod kątem wpływu na nasze zdrowie ocenie podlega pył zawieszony PM 10, a więc taki, o cząstkach pyłu mniejszych bądź równych 10 μm oraz pył zawieszony frakcji PM 2,5 – o cząstkach pyłu mniejszych bądź równych 2,5 μm . Dyrektywa określa poziomy dopuszczalne dla pyłu frakcji PM 10 na 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ w okresie 24 godzinny oraz 40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ w roku. Dla frakcji PM 2,5 poziomy dopuszczalne zostały ustalone na 25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ rocznie do osiągnięcia do roku 2015 oraz 20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ do roku 2020. Wartości te są jednak wyższe niż na przykład w Stanach Zjednoczonych, gdzie już od roku 2012 bezwzględnie wymagany jest poziom poniżej 15 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ przy zaleceniu 15 $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

Obecnie standardowe metody badania jakości powietrza obejmują głównie pomiary stężenia pyłów. Ocenę stopnia zanieczyszczenia bada się także określając stężenie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych znajdujących się na liście U.S. EPA oraz porównanie ich wartości do wartości dopuszczalnych przepisami prawa. Działania te pozwalają jedynie na chwilową ocenę stanu środowiska. Analizy fizykochemiczne nie pozwalają bowiem na prognozowanie skutków jakie zaadsorbowane na poszczególnych frakcjach pyłu zawieszonego zanieczyszczenia wywołają u organizmów żywych stale narażonych na ich działanie. Do tej pory nie stosuje się standardowo żadnego typu badań mających na celu poznanie oddziaływania zanieczyszczeń zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym na organizmy żywe.

Często stosowaną metodą w badaniach oceny mutagenności pyłów zawieszonych jest bakteryjny test *Salmonella*, zwany inaczej od nazwiska jego twórcy testem Ames. Inną alternatywą metodą w stosunku do klasycznej procedury testu *Salmonella* może być mikropłytkowy test Ames II assay. W teście tym wykorzystuje się zbiór sześciu szczepów TA7001-TA7006 (TA700x), powstałych na bazie szczepu testowego TA100, przydatnych w

badaniach nitro-WWA, często obecnych w pyłowych zanieczyszczeniach powietrza. Ponadto, zastosowanie mikrobiotestu w monitoringu zanieczyszczeń powietrza wiązałoby się z wieloma korzyściami takimi jak: zużycie mniejszej ilości badanej próbki, zmniejszenie pracochłonności wykonania, zmniejszenie ilości sterylnego szkła laboratoryjnego i skrócenia czasu trwania testu.

W pracy przedstawione zostaną wyniki badań oceny genotoksyczności pyłowych zanieczyszczeń powietrza frakcji PM 2,5 pobranych na terenie aglomeracji wrocławskiej w różnych sezonach roku 2012. Badania wykonywano w oparciu o standardowy test *Salmonella* oraz mikropłytkowy test Ames II przeprowadzany według standardowej procedury opisanej w Xenometrix AG, Switzerland zgodnej z wytycznymi OECD.

Praca wykonana w ramach grantu MNiSW Nr. N N523 612939 (2010-2013)

Wpływ lotnych związków organicznych na aktywność mitochondriów komórek płuc z linii A549

M. CHRANIUK^a, D. RITTER^b, J. KNEBEL^b, L. WOLSKA^a

a- Zakład Toksykologii Środowiska Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębowa 23, 80-204 Gdańsk, Polska

b- Fraunhofer Institut Toxikologie und Experimentelle Medizin, In vitro und Mechanistische Toxikologie, Nikolai-Fuchs-Str. 1, D-30625 Hanower, Niemcy
e-mail: milenachraniuk@gumed.edu.pl

Wstęp

Lotne związki organiczne (LZO) emitowane przez przemysł, transport oraz materiały budowlane i wyposażeniowe mogą znacząco wpływać na płuca człowieka. By określić niekorzystny wpływ tych związków na układ oddechowy coraz częściej wykonuje się eksperymenty z wykorzystaniem komórkowych modeli płuc. By model jak najbardziej odzwierciedlał warunki panujące w układzie oddechowym konieczne jest zastosowanie odpowiedniej linii komórkowej oraz przeprowadzenie ekspozycji na związek w układzie ALI (Air-Liquid- Interface). Układy tego typu zapewniają narażanym komórkom dostęp do pożywki od strony bazalnej oraz kontakt z badanym związkiem od strony apikalnej. Celem pracy jest opisanie toksycznego wpływu lotnych związków organicznych na mitochondria komórek z linii A549.

Metody

Komórki z linii A549 narażano na LZO: formaldehyd, styren lub toluen w systemie ALI PRIT[®]. Po zakończeniu ekspozycji przeprowadzony został test kolorymetryczny WST-1 mający na celu określenie aktywności mitochondriów komórek A549. Na bazie uzyskanych wyników wyznaczono krzywe dawka-odpowiedź.

Wyniki

Ekspozycja komórek A549 na formaldehyd powoduje spadek aktywności mitochondriów przy niskich dawkach związku. W przypadku styrenu i toluenu spadek aktywności mitochondriów można zaobserwować jedynie po narażeniu na stężenia znacznie wyższe od formaldehydu. Mieszanina formaldehydu i toluenu obniża aktywność mitochondriów komórek A549 przy stężeniach składników, które osobno nie wywołują efektów toksycznych.

Wnioski

Obniżenie aktywności mitochondriów jest jednym objawów toksycznego wpływu LZO na komórki płuc. Dodatkowo ekspozycja na tego typu związki może skutkować innymi zmianami w funkcjonowaniu komórki np. podwyższoną ekspresją genów kodujących białka HSP. By dokładniej ocenić wpływ LZO na układ oddechowy człowieka konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań z oceną innych parametrów aktywności biologicznej po ekspozycji. Dodatkowo należy wziąć pod uwagę przeprowadzenie eksperymentów z udziałem linii komórek zdrowych np. NHBE lub BEAS-2B, które są lepszym modelem płuc niż nowotworowe komórki A549.

Streszczenia

posterów

Ocena mobilności i toksyczności metali ciężkich z zanieczyszczonych osadów dennych przy wykorzystaniu baterii biotestów i ekstrakcji sekwencyjnej

AGNIESZKA BARAN¹, MAREK TARNAWSKI², TOMASZ KONIARZ²

Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej¹, Katedra Inżynierii Wodnej i Geotechniki²,
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
Agnieszka.Baran@ur.krakow.pl

Słowa kluczowe: metale ciężkie, biotesty, frakcjonowanie, mobilność, toksyczność

Struktura osadów sprawia, że stanowią one naturalny geosorbent, w którym akumulują się zanieczyszczenia wprowadzane do środowiska wodnego. Metale ciężkie są jednym z głównych zanieczyszczeń występujących w osadach dennych. Użytecznymi narzędziami, których zastosowanie pozwala na kompleksową ocenę zagrożeń wynikających z obecności metali ciężkich w osadach dennych, ich mobilności i toksyczności są biotesty oraz analiza form występowania metali. Ze względu na to, że organizmy różnią się wrażliwością w stosunku do różnych substancji, istotnym czynnikiem jest dobór odpowiedniej baterii organizmów testowych (biotestów), reprezentujących wszystkie ogniwa łańcucha troficznego, a więc zarówno producentów, konsumentów i reducentów. Z kolei analiza poszczególnych form występowania metali metodą ekstrakcji sekwencyjnej pozwala na wyekstrahowanie form metali od słabo związanych z fazą stałą (formy rozpuszczalne, wymienne) aż do frakcji związanych trwale, mniej mobilnych i tym samym potencjalnie nie zagrażających środowisku. Całkowite zawartości metali pozwalają na ocenę stopnia zanieczyszczenia metalami osadów dennych, są jednak miernym wskaźnikiem potencjalnego ich wpływu na środowisko wodne. Nie dają one pełnej informacji o ich chemicznej reaktywności, związanej z mobilnością i możliwości przejścia do wody, a dalej do obiegu geochemicznego. Celem badań była ocena mobilności i toksyczności metali ciężkich z zanieczyszczonych osadów dennych przy wykorzystaniu baterii biotestów (Phytotoxkit, Ostracodtoxkit F, Microtox) i chemicznej ekstrakcji sekwencyjnej.

Reakcja *Heterocypris incongruens* na zanieczyszczenia gleb olejem napędowym

AGNIESZKA BEŚ, KAZIMIERZ WARMIŃSKI, ADAM BŁASZCZOK
Katedra Toksykologii Środowiska, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul.
Prawocheńskiego 17
10-720 Olsztyn, tel. 89-523-33-36
e-mail: agnieszka.bes@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: gleba, olej napędowy, *Heterocypris incongruens*

Streszczenie

Rozwój motoryzacji oraz ciągle postępująca industrializacja powoduje wzrost zapotrzebowania społeczeństwa na produkty naftowe, a co za tym idzie nieuchronne zwiększanie zanieczyszczenia tymi związkami. Zaolejone gleby, odpady i ścieki stanowią pokaźny, ciągle narastający udział w degradacji powierzchni ziemi. Ropa naftowa wraz z jej pochodnymi są jednym z najpoważniejszych zagrożeń dla środowiska naturalnego w Polsce. Przedostają się do gleb, wód i powietrza wieloma różnymi drogami (głównie przy udziale człowieka) ulegając tam transformacji na zanieczyszczenia wtórne, częściowej degradacji lub też przedostają się do ogniw łańcucha pokarmowego ludzi i zwierząt powodując jego skażenie. Pochodzenie oraz droga tych substancji, którą docierają do gruntu ma olbrzymi wpływ na charakter późniejszych form tworzących się zanieczyszczeń.

Celem pracy było określenie reakcji małżoraczków *Heterocypris incongruens* na zanieczyszczenia gleb olejem napędowym przy pomocy testu bezpośredniego kontaktu Ostracodtoxkit F. Do badań wybrano glebę lekką, którą skażano odpowiednią ilością oleju napędowego Eurodiesel LOTOS, używanego jako paliwo do silników Diesla o następujących parametrach: - lepkość (min) w 40° C - 2-4,5 mm² · s⁻¹, zawartość (max) S - 10 mg · kg⁻¹, gęstość (max) w 15° C - 820-845 kg · m⁻³. Do skażonych gleb wprowadzano sadzonki sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) oraz buka zwyczajnego (*Fagus sylvatica* L.). Doświadczenie obejmowało różne poziomy skażenia gleby: od 0,3 do 2,4% (3-24 g oleju napędowego na kg s.m. gleby).

Korzystając z uzyskanych wyników, obliczono średnią procentową śmiertelność organizmów dla gleby kontrolnej i gleb skażonych olejem napędowym. Badania wykazały, że olej napędowy toksycznie oddziaływał na skorupiaki *Heterocypris incongruens* w całym zakresie stosowanych stężeń. Najwyższą śmiertelność bioindykatorów – 20% odnotowano w przypadku najwyższych stężeń oleju napędowego w glebie. Zahamowanie wzrostu skorupiaków w glebach skażonych największą dawką oleju Eurodiesel wyniosło 26,8%.

Ekotoksykologiczna ocena stałych pozostałości pofermentacyjnych (SPP)

MAGDALENA STEFANIUK¹, PATRYK OLESZCZUK¹, KRZYSZTOF RÓŻYŁO²

¹Zakład Chemii Środowiskowej, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej,
pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

²Katedra Ekologii Rolniczej, Wydział Agrobiotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy
w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin
e-mail: magdalena.stefaniuk@poczta.umcs.lublin.pl

Słowa kluczowe: biotesty, pozostałości pofermentacyjne, stała pozostałość z biogazowni, MARA, Microtox®

Stosunkowo nowym materiałem, który może stanowić interesujące źródło do poprawy właściwości gleb jest pozostałość po fermentacji metanowej z biogazowni. Odpad ten charakteryzuje się wysoką zawartością materii organicznej i innych składników odżywczych, jednocześnie nie jest obciążony tak znacznym ładunkiem zanieczyszczeń jak innego rodzaju odpady np. osady ściekowe. Mimo potencjalnie korzystnych właściwości stałych pozostałości pofermentacyjnych (SPP) istnieje potrzeba kompleksowej ich oceny, która wykluczy potencjalnie negatywne skutki środowiskowe. Aby zapobiec ewentualnym nieodwracalnym szkodom dla środowiska materiały te wymagają dogłębnego zbadania ich właściwości nie tylko fizyko-chemicznych ale również ekotoksykologicznych.

Celem badań było określenie toksyczności SPP za pomocą testów reprezentujących różne poziomy troficzne: rośliny (Phytotoxkit FTM – *Sinapis alba* i *Lepidium sativum*), bezkręgowce (Colembolan test – *Folsomia candida*) oraz bakterie (Microtox® - *V. fischerii* i MARA – 11 różnych mikroorganizmów). Analizie poddano próbki SPP pobrane z biogazowni przetwarzających różne odpady organiczne (kiszonkę kukurydzy, obornik, wywar gorzelniany, słomę, odpady poubojowe, odpady z mleczarni, wycierkę ziemniaczaną, wytloki owocowe i buraczane).

W zależności od pochodzenia, surowców użytych do produkcji biogazu oraz rodzaju frakcji SPP obserwowano zróżnicowany wpływ badanych materiałów na organizmy testowe. Przeprowadzone badania wykazały silne działanie toksyczne analizowanych próbek w stosunku do *V. fischerii* (Microtox®). W teście MARA stwierdzono stymulujący wpływ SPP na wzrost wszystkich badanych bakterii w stosunku do próbki kontrolnej. Wpływ badanych materiałów na *L. sativum* i *S. alba* był również zróżnicowany i zależał zarówno od rodzaju rośliny jak i materiału użytego do badań. Mniej wrażliwa na toksyczność pozostałości z biogazowni okazała się *S. alba* aniżeli *L. sativum*. Wraz ze wzrostem dawki SPP obserwowano zwiększenie zahamowania wzrostu korzeni badanych roślin. Wpływ SPP na *F. candida* podobne jak inne testy wykazywał zróżnicowanie w zależności od rodzaju surowca użytego do badań.

Praca naukowa finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki, Projekt Nr 2012/07/E/ST10/00572

Biowęgle z osadów ściekowych – zawartość WWA, metali ciężkich i ich toksyczność

A. ZIELIŃSKA, P. OLESZCZUK

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Chemii, Zakład Chemii Środowiskowej, pl.

Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

e-mail: anna.zielinska@poczta.umcs.lublin.pl

Słowa kluczowe: osad ściekowy, biowęgiel, piroliza, WWA, metale ciężkie, toksyczność.

Obecność zanieczyszczeń, takich jak silnie toksycznych związków organicznych (wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne - WWA), potencjalnie toksycznych pierwiastków (metale ciężkie), mikroorganizmów chorobotwórczych czy jaj robaków, ogranicza znacznie zastosowanie osadów ściekowych do użyźniania gleb i rekultywacji terenów oraz gleb zdegradowanych. Celem badań była ocena wpływu procesu pirolizy osadów ściekowych na zawartość zanieczyszczeń i toksyczność otrzymanych biowęgla. Badania wykazały, że konwersja osadu ściekowego do biowęgla zmniejsza zawartość WWA. Zawartość WWA w biowęglach zależała głównie od rodzaju pirolizowanego osadu ściekowego. Temperatura pirolizy była drugorzędnym parametrem limitującym ich stężenie. W otrzymanych biowęglach zawartość WWA zmalała w porównaniu do wyjściowego surowca, z wyjątkiem naftalenu. Należy jednak podkreślić, że stężenie WWA w biowęglach rosło wraz ze wzrostem temperatury otrzymywania biowęgla. W przypadku tylko jednego osadu ściekowego zanotowano tendencję odwrotną. Zależnie od rodzaju osadu i temperatury pirolizy zawartość WWA zmniejszyła się od 8 do 25 razy. W przypadku niektórych WWA piroliza zredukowała całkowicie ich zawartość. Zawartość badanych metali ciężkich (Pb, Cd, Zn, Cu i Cr) zwiększyła się w stosunku do wyjściowych osadów ściekowych. Ekotoksykologiczną ocenę zarówno wyjściowych surowców, jak i otrzymanych biowęgla przeprowadzono przy wykorzystaniu testów z roślinami (*Lepidium sativum*), bakteriami (*Vibrio fischeri*) oraz skorupiakami (*Daphnia magna*). Piroliza osadów ściekowych spowodowała znaczące obniżenie ich toksyczności w stosunku do badanych organizmów.

Dafnie w ocenie toksyczności ciprofloksacyny i chlorotetracykliny

M. BACIAK, Ł. SIKORSKI, A. I. A. SIKORA, PIOTROWICZ-CIEŚLAK*, B. ADOMAS

Katedra Toksykologii Środowiska, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
Prawocheńskiego 17, 10-720 Olsztyn

*Katedra Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w
Olsztynie, ul. Oczapowskiego 1 A, 10-719 Olsztyn
e-mail: badomas@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: woda, ciprofloksacyna, chlorotetracyklina, toksyczność, Daphtoxkit

Streszczenie

Powszechność stosowania leków a w szczególności antybiotyków sprawiła, że w ściekach znajduje się duża ilość farmaceutyków, które następnie trafiają do rzek, jezior, strumieni oraz zbiorników wodnych. Obecność w wodach powierzchniowych leków może być przyczyną degradacji ekosystemów wodnych (roślinności oraz zwierząt żyjących w danym akwenie). Organizmy wodne są bardziej narażone na działanie zanieczyszczeń wywołanych lekami, ponieważ - w porównaniu z człowiekiem - trucizny te pobierane są przez cały organizm w sposób ciągły, zmieniając jego funkcje behawioralne, fizjologiczne i genetyczne.

Fluorochinolony są to leki należące do chinolonów, które stosowane są w leczeniu od ponad 20 lat. Do grupy tej należy ciprofloksacyna, która jest zaliczana do najsilniej toksycznych fluorochinolonów szczególnie wobec bakterii gram ujemnych.

Tetracykliny mimo, iż zostały odkryte ponad 50 lat temu to nadal są najczęściej stosowanymi antybiotykami. Tetracykliny hamują wzrost i rozwój wielu gatunków bakterii beztlenowych i tlenowych. Tetracykliną najlepiej rozpuszczalną w wodzie jest chlorotetracyklina.

Reakcja ekosystemu na zanieczyszczenia zależy od najbardziej wrażliwych gatunków w nim żyjących. W zbiornikach wodnych organizmami bio wskaźnikowymi szczególnie wrażliwymi na zanieczyszczenia są m.in. rozwielitki.

Celem badań była ocena toksyczności różnych stężeń ciprofloksacyny i chlorotetracykliny w stosunku do rozwielitek występujących w planktonie słodkowodnych akwenów - *Daphnia magna*.

Toksyczność leków oceniono przy pomocy testu stosowanego do badania prób środowiskowych oraz roztworów różnych substancji chemicznych - Daphtoxkit FTM. Badano wpływ takich samych stężeń ciprofloksacyny (0, 1, 2,5, 10, 20, 40 mM) i chlorotetracykliny (0, 1, 2,5, 10, 20, 40 mM) na behavior dafni obejmujący zaburzenia w pływaniu (liczbę wykonywanych skoków) oraz unieruchomienie. Dodatkowo oceniono wpływ leków na liczbę uderzeń serca.

Zaburzenia w pływaniu dafni (skoki) oceniano w probówkach zawierających po 1,5 ml testowanego leku. Następnie nagrywano 30 sekundowy film aparatem typu Sony Cybershot, który pozwolił ocenić zaburzenia w poruszaniu się dafni. Liczbę skoków dafni uzyskaną w ciągu 30 sekund przeliczono na jedną minutę.

Za unieruchomienie rozwielitek przyjęto moment, gdy dafnie po 15 minutach ekspozycji na lek nie wykazywały żadnego ruchu, opadały na dno naczynia testowego, zaś po kilkukrotnym wstrząśnięciu naczyniem pozostały w dalszym ciągu bez ruchu.

Celem określenia liczby uderzeń serca, dafnie umieszczano pod mikroskopem marki NIKON Eclipse E200 przy powiększeniu 40x. Obserwacje prowadzono przez 30 sekund, a

wynik podano przeliczając liczbę uderzeń serca na minutę. Oceniane cechy dafni (z wyjątkiem unieruchomienia) wykonywano w sześciu powtórzeniach.

Stwierdzono, że ciprofloksacyna i chlorotetracyklina były toksyczne wobec dafni, jednak ich toksyczność była różna. Większą toksycznością odznaczała się chlorotetracyklina. Ciprofloksacyna w stężeniu 5 mM spowodowała unieruchomienie dafni po 180 minutach, zaś ten sam efekt unieruchomienia badanych organizmów w tym samym czasie stwierdzono u dafni narażonych na kontakt z chlorotetracykliną w stężeniu 1mM. Pływanie dafni (skoki) zostało zaburzone przez najwyższe z badanych stężeń ciprofloksacyny (40 mM) po 45 minutach, natomiast stężenie szesnaście razy mniejsze chlorotetracykliny (2,5 mM), zaburzyło pływanie - również po 45 minutach. Liczba uderzeń serca dafni pod wpływem wzrastających stężeń ciprofloksacyny malała, aby w stężeniu 40 mM po czasie 60 minut osiągnąć wartość zerową, natomiast pod wpływem chlorotetracykliny w stężeniu 20 mM spada do 0, wartość ta została odnotowana po 15 minutach. Dowiedziono, że zaprzestanie bicia serca jest lepszą miarą śmiertelności dafni, aniżeli ich unieruchomienie.

Wnioski

- 1). Badane leki (ciprofloksacyna i chlorotetracyklina) były toksyczne wobec dafni, jednak ich toksyczność różniła się.
- 2). Ciprofloksacyna w stężeniu 5mM, zaś chlorotetracyklina w stężeniu 1mM spowodowały unieruchomienie dafni po 180 minutach.
- 3). Pływanie dafni zostało zaburzone przez najwyższe z badanych stężeń ciprofloksacyny (40 mM) natomiast szesnaście razy mniejsze - chlorotetracykliny (2,5 mM) po 45 minutach.
- 4). Liczba uderzeń serca dafni pod wpływem wzrastających stężeń ciprofloksacyny malała, aby w stężeniu 40 mM po czasie 60 minut osiągnąć wartość zerową, natomiast pod wpływem chlorotetracykliny w stężeniu 20 mM spadała do 0, wartości te zostały odnotowane również po 10 minutach.
- 5). Chlorotetracyklina była bardziej toksyczna wobec dafni aniżeli ciprofloksacyna.
- 6). Dowiedziono, że zaprzestanie bicia serca jest lepszą miarą śmiertelności, aniżeli ich unieruchomienie.

Ocena toksyczności 1-alkilo-3-metyloimidazoliowych cieczy jonowych w stosunku do wybranych enzymów glebowych

ARKADIUSZ TELESIŃSKI

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii,
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin
e-mail: arkadiusz.telesinski@zut.edu.pl

Słowa kluczowe: imidazoliowe cieczy jonowe, oksydaza o-difenolowa, peroksydazy, fosfataza kwaśna, ureaza, gleba

Ciecze jonowe określane są często mianem tzw. „zielonych rozpuszczalników”. Jednak całkowite postrzeganie tych związków jako przyjaznych środowisku może prowadzić do niewłaściwego eksperymentalnego ich projektowania i utylizacji. Ciecze jonowe są zaawansowanymi, technologicznymi rozpuszczalnikami, które mogą zostać dostosowane do specyficznego celu. Oferują nowe, interesujące właściwości chemiczne i fizyczne, a ich niska prężność par stała się głównym powodem zainteresowania tymi związkami. Ważne jest jednak, aby wziąć pod uwagę, iż dalszy los większości cieczy jonowych w środowisku oraz ich potencjalna toksyczność nie jest do końca poznana.

Ciecze jonowe mogą dostawać się do gleby między innymi w wyniku przypadkowego rozlania, stosowania kompostów z osadów ściekowych, czy odcieków ze składowisk odpadów. Kationy organiczne cieczy jonowych w niewielkim stopniu ulegają biodegradacji oraz charakteryzują się dużą sorpcją na cząstkach gleby, zwłaszcza z dużą zawartością węgla organicznego, przez co przez długi okres pozostają w środowisku glebowym. Ponadto, znajdujący się bardzo często w anionie fluor, ze względu na szereg ekstremalnych swoich właściwości jest zaliczany do tych pierwiastków, których oddziaływanie na środowisko przyrodnicze należy uznać za szczególnie niebezpieczne.

Ze względu na heterogeniczność środowiska glebowego bardzo dobrym narzędziem pozwalającym w sposób kompleksowy określić faktyczną jakość jest jej aktywność enzymatyczna. Przez długi okres czasu gleba była traktowana jako sorbent, filtr i bufor środowiska, zabezpieczający jakość wody i atmosfery. Zachodzą jednak w niej ciągłe procesy rozkładu i syntezy zarówno związków mineralnych, jak i organicznych, a także ich przemieszczanie i akumulacja. Procesy biologiczne kształtujące żyzność gleby opierają się na transformacji materii organicznej, przy czym związane są one głównie z drobnoustrojami i wydzielanymi przez nie enzymami oraz z tempem prowadzonych przez nie przemian biogeochemicznych w krążeniu pierwiastków.

Celem podjętych badań było określenie zmian aktywności wybranych enzymów w glebach z dodatkiem 1-alkilo-3-metyloimidazoliowych cieczy jonowych w zależności od długości podstawnika węglowodorowego w kationie.

Badania przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych na trzech rodzajach próbek gleb pobranych z poziomu ornopróchnicznego (0-30 cm) ziem brunatno-rdzawych RSD w Lipniku oraz czarnych ziem Równiny Gumienieckiej i Równiny Pyrzyckiej. Gleby te charakteryzują się składem granulometrycznym, odpowiednio piasku gliniastego, gliny lekkiej i gliny piaszczysto-ilastej oraz zawartością węgla organicznego 0,87%, 1,09% i 3,38%. W doświadczeniu użyto trzech cieczy jonowych różniących się długością podstawnika alkilowego w kationie imidazoliowym: tetrafluoroboran 1-butylo-3-metyloimidazoliowy [BMIM][BF₄]; tetrafluoroboran 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy [HMIM][BF₄] oraz tetrafluoroboran 3-metylo-1-oktyloimidazoliowy [OMIM][BF₄].

Do części ziemistych pobranego materiału glebowego wprowadzono analizowane ciecz jonową w dawkach: 0,05; 0,50 i 5,00 mmol·kg⁻¹s.m. gleby. Następnie doprowadzono wilgotność gleb do 60% maksymalnej pojemności wodnej. Glebę dokładnie wymieszano i przechowywano w szczelnie zamkniętych workach polietylenowych w temperaturze 20°C. Punktem odniesienia była gleba kontrolna (bez dodatku cieczy jonowych) utrzymywana w takich samych warunkach jak próbki glebowe z dodatkiem cieczy jonowych.

We wszystkich kombinacjach badano metodami spektrofotometrycznymi aktywność wybranych enzymów glebowych z klasy oksydoreduktaz: oksydazy o-difenolowej, peroksydaz, oraz klasy hydrolaz: fosfatazy kwaśnej oraz ureazy w następujących terminach: 1., 7., 14., 28., 56. i 112. dzień doświadczenia.

Wprowadzenie do gleby 1-alkilo-3-metyloimidazoliowych cieczy jonowych spowodowało stymulację aktywności oznaczanych oksydoreduktaz oraz inhibicję aktywności hydrolaz. Stwierdzony efekt zwiększał się wraz z wydłużaniem podstawnika alkilowego. Natomiast wraz ze wzrostem zawartości węgla organicznego oraz frakcji iłu zmniejszało się oddziaływanie badanych związków.

Toksyczność biowęgla po usunięciu drogą obróbki termicznej wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych

M.KOŁTOWSKI, P.OLESZCZUK

Zakład Chemii Środowiskowej, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej,
Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin, Poland

michal.koltowski@poczta.umcs.lublin.pl

Słowa kluczowe: WWA; biowęgiel; toksyczność; Vibrio fischeri; Daphnia magna; Lepidium sativum

W ostatnich latach obserwuje się nasilenie zainteresowania problemem występowania wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w biowęglach. Ze względu na niekiedy wysoką zawartość WWA w biowęglach, kwestionowane jest ich przyrodnicze wykorzystanie. Brak jest jednak w literaturze potwierdzenia czy i jaka ilość WWA w biowęglu może stwarzać zagrożenie dla organizmów żywych. Celem badań było określenie wpływu WWA zawartych w różnych biowęglach na ich toksyczność w stosunku do *Vibrio fischeri* (Microtox®), *Daphnia magna* (Daphtoxkit F™) oraz *Lepidium sativum* (Phytotoxkit F™). Badaniom poddano trzy biowęgla otrzymane z miskantusa (*Miscanthus Andersson*) (BCM), wierzby energetycznej (*Salix viminalis* L.) (BCW) oraz pszenicy (*Triticum* L.) (BCS). Biowęgla charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością WWA (od 3,5 mg/kg do 39,9 mg/kg). Z biowęgla usuwano WWA poddając je suszeniu w temperaturach: 100°C, 200°C oraz 300°C. Tak przygotowane biowęgla poddano ocenie ekotoksykologicznej.

Ogrzewanie w temperaturze 100°C spowodowało w zależności od rodzaju biowęgla redukcję zawartości WWA na poziomie 33.8-88.1%. Zwiększenie temperatury suszenia (do 200°C i 300°C) spowodowało całkowitą redukcję WWA w ciągu 24h. Wyjątek stanowił piren w biowęglu BCS, który występował w biowęglu suszonym zarówno w temperaturze 200°C jak i 300°C. Usunięcie WWA z biowęgla, który zawierał ich najwięcej (BCM) spowodowało całkowitą redukcję jego toksyczności w stosunku do *V. fischeri* i *L. sativum*. Także w stosunku do *D. magna* zanotowano obniżenie toksyczności tego biowęgla po usunięciu z niego WWA. W pozostałych biowęglach (BCS i BCW), w których oznaczono niższą niż w biowęglu BCM zawartość WWA, nie stwierdzono zależności między zakresem usunięcia WWA a ich toksycznością.

Badania wykonano w ramach grantu PSPB-135/2010

Ocena fitotoksyczności pozostałości glifosatu w glebie

MACIEJ PŁATKOWSKI, ARKADIUSZ TELESIŃSKI

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii,
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin
e-mail: maciej.platkowski@zut.edu.pl

Słowa kluczowe: glifosat, fitotoksyczność, pszenica, gorczyca

Glifosat wszedł na rynek w 1974 roku jako składnik preparatu Roundup. Jest on aktualnie jednym z najczęściej stosowanych herbicydów, a jego użycie ciągle wzrasta. Obecnie stosuje się wiele preparatów handlowych zawierających glifosat, przy czym preparaty te na ogół są znacznie bardziej toksyczne niż ich substancja czynna, głównie ze względu na zawarte w nich związki powierzchniowo czynne i substancje nośnikowe.

Pod względem chemicznym glifosat jest N-fosfonometyloglicyną – pochodną kwasu fosfonowego w której jeden z atomów wodoru grupy metylowej bezpośrednio połączonej z fosforem został zastąpiony przez glicynę. Rozpuszczalność glifosatu w wodzie wynosi 1,16% przy 25°C, a przy 100°C około 6%. Często stosowana sól izopropyloamoniowa glifosatu jest bardzo dobrze rozpuszczalna w wodzie. Glifosat jest praktycznie nierozpuszczalny w rozpuszczalnikach organicznych z wyjątkiem kwasu trifluorooctowego.

Glifosat pobierany jest przez zielone części roślin, takie jakliście, zielone pędy i niezdrewniałą korę, a przemieszczając się w roślinie w sposób systemowy dociera do części podziemnych, takich jak korzenie, rozłogi, bulwy, cebule i kłącza, powodując ich zamieranie. Zahamowanie rozwoju chwastów następuje w ciągu pierwszej doby od zabiegu. Hamuje on działanie enzymu syntazy EPSP (syntazy 5-enolopirogronoszykimo-3-fosforanu), który jest kluczowym enzymem na szlaku metabolicznym kwasu szikimowego, związanego z biosyntezą aromatycznych aminokwasów (fenyloalaniny, tyrozyny i tryptofanu).

Mimo tego, że glifosat znany jest rolnictwu od wielu lat, to naukowcy prowadzą dalsze, nieustające eksperymenty, aby odpowiedzieć na pytanie: Czy do tej pory przeprowadzone badania w pełni odzwierciedlają nietoksyczne działanie tego herbicydu?

Wszystkie herbicydy, nawet stosowane nalistnie dostają się do gleby, która stanowi rezerwar kumulujących ich pozostałości. Pozostałości środków ochrony roślin, jak i powstające w efekcie ich rozkładu mikrobiologicznego metabolity mogą wykazywać działanie fitotoksyczne w stosunku do roślin następnych.

Celem podjętych badań była ocena fitotoksyczności pozostałości glifosatu w glebie w stosunku do roślin pszenicy oraz gorzycy białej.

Badania przeprowadzono za pomocą zmodyfikowanego testu kiełkowania nasion i wczesnego wzrostu roślin PHYTOTOKKIT. Modyfikacja polegała na zmianie gatunków roślin testowych. Z zalecanych w teście roślin dwuliściennych wybrano gorczycę białą (*Sinapsis alba* L.). Do oceny fitotoksyczności w stosunku do roślin jednoliściennych wybrano pszenicę odmiany Skagen (*Triticum aestivum* L. cv. Skagen), z powodu największego areалу upraw tego gatunku. Badania przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych na glebie pobranej z poziomu orno-próchniczego (0-30 cm) ziem brunatno-rdzawych Rolniczej Stacji Doświadczalnej w Lipniku, która charakteryzuje się składem granulometrycznym piasku gliniastego i zawartością C_{org} 0,87%. Gleba została uprzednio wysuszona, przesiana przez sito o średnicy oczek 2 mm. Do części ziemistych wprowadzono dwa preparaty zawierające glifosat: Roundup 360 SL oraz Roundup 450 SL. Dawki wprowadzonych wodnych roztworów preparatów przeliczono na ilości glifosatu: 1, 10, 100 mg·kg⁻¹. Próbą odniesienia była gleba kontrolna (bez dodatku herbicydu). W celu sprawdzenia ewentualnej toksyczności

gleby kontrolnej zastosowano również glebę referencyjną, będącą mieszaniną piasku, kaolinitu, torfu i węgla wapnia, która jest analogiczna do referencyjnej gleby rekomendowanej przez OECD. Badania przeprowadzono zgodnie z procedurą opisaną w instrukcji dołączonej do testu PHYTOTOXIT. Płytki testowe z glebą i roślinami kontrolnymi były przechowywane w ciemności w temperaturze 25°C. Zdjęcia cyfrowe płytek zostały wykonane po 3 dniach od założenia doświadczenia. Długość korzeni została obliczona za pomocą programu do analizy obrazu Image Tools.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że pozostałości glifosatu we wszystkich badanych próbach znacząco zahamowały kiełkowanie nasion gorczycy białej. W przypadku gleby referencyjnej i próby kontrolnej (gleba bez dodatku glifosatu) nie ma istotnych różnic w zahamowaniu kiełkowania oraz wzrostu korzeni. Jednak już przy dawce glifosatu 1 mg·kg⁻¹ zahamowanie kiełkowania wynosiło ponad 90%, a zahamowanie wzrostu korzeni ponad 95%. Nie można jednoznacznie stwierdzić, która dawka glifosatu ma większy wpływ na zahamowanie kiełkowania gorczycy, ponieważ wszystkie stężenia były zbyt toksyczne dla tej rośliny.

Inaczej przedstawiała się sytuacja dla roślin pszenicy. Analizując stopień zahamowania kiełkowania nasion pszenicy, stwierdzono, że efekt ten wystąpił jedynie po wprowadzeniu glifosatu w dawce 100 mg·kg⁻¹ i wynosił on dla preparatu Roundup 360 SL – 22%, a dla preparatu Roundup 450 SL – 11%. Biorąc pod uwagę stopień zahamowania wzrostu korzeni wyraźnie widać zwiększający się efekt toksyczności wraz ze wzrostem dawki glifosatu. Na płycie z glebą kontrolną (gleba bez dodatku glifosatu) zaobserwowano o 58% większy wzrost korzeni niż w glebie referencyjnej, dlatego też otrzymane wyniki przeliczono w stosunku do gleby kontrolnej. Zahamowanie wzrostu korzeni w badanych próbach wyniosło dla preparatu Roundup 360 SL, przy dawce glifosatu 1 mg·kg⁻¹ – 34%, 10 mg·kg⁻¹ – 50%, 100 mg·kg⁻¹ – 81%. Dla preparatu Roundup 450 SL stwierdzono natomiast następujące zahamowanie wzrostu korzeni, przy dawce glifosatu 1 mg·kg⁻¹ – 30%, 10 mg·kg⁻¹ – 50%, a 100 mg·kg⁻¹ – 82%.

Zastosowanie baterii biotestów w klasyfikacji ekotoksykologicznej gleb

AGNIESZKA BARAN, JERZY WIECZOREK, CZESŁAWA JASIEWICZ
Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie,
Agnieszka.Baran@ur.krakow.pl

Słowa kluczowe: bateria biotestów, monitoring, toksyczność, gleby

Monitoring gleb jest prowadzony w Polsce przede wszystkim w oparciu o zawartości graniczne różnych substancji chemicznych zawartych w Rozporządzeniu Ministra Środowiska w sprawie standardów, jakości gleby oraz standardów jakości ziemi z dnia 9 września 2002 r. (Dz. U. 2002, nr 165, poz. 1359). W identyfikacji stopnia zanieczyszczenia gleb i ich klasyfikacji istotne jest przeprowadzenie, obok analiz fizyczno-chemicznych, również oceny toksyczności gleb z zastosowaniem organizmów żywych jako biosensorów zmian antropogenicznych środowiska glebowego. Ze względu na to, że organizmy różnią się wrażliwością w stosunku do różnych substancji, istotnym czynnikiem dotyczącym badań toksyczności jest dobór odpowiedniej baterii organizmów testowych. Ważne jest, aby organizmy należały do różnych grup taksonomicznych i reprezentowały różne ogniwa łańcucha troficznego. Celem badań było zastosowanie baterii biotestów (Phytotoxkit, Ostracodtoxkit oraz Microtox) w ocenie toksyczności gleb pobranych na terenie północno-zachodniej Małopolski oraz ich ekotoksykologiczna klasyfikacja.

Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2011-2013. Grant nr N N305 107640 „Wykorzystanie biotestów jako wskaźników zanieczyszczenia gleb na terenie województwa małopolskiego”

Fitotoksyczność biowęgla otrzymanych z różnych materiałów wyjściowych przy różnej zawartości tlenu w procesie pirolizy

J. MADEJ, P. OLESZCZUK

Zakład Chemii Środowiskowej, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie - Skłodowskiej
pl. Marii Curie – Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

e-mail: jaroslaw.madej@poczta.umcs.lublin.pl

Słowa kluczowe: biowęgiel, piroliza, toksyczność, Lepidium sativum, Phytotoxkit™

Biowęgiel jest coraz częściej wykorzystywany do sekwestracji węgla oraz do poprawy jakości gleb. Może on służyć (podobnie jak węgiel aktywny) do immobilizacji zanieczyszczeń zarówno nieorganicznych jak i organicznych w różnych matrycach środowiskowych m.in. w glebach, osadach dennych, itp. Dodatkowo, podwyższa on pH gleb, zwiększa zdolność wymiany kationów (CEC) oraz pojemność buforową, poprawia strukturę fizyczną gleby, zwiększa liczebność drobnoustrojów glebowych i dostępność składników odżywczych. Jednakże analizy fizykochemiczne mogą być niewystarczającym narzędziem pozwalającym w pełni ocenić jakość otrzymanych materiałów. Jednym z narzędzi pozwalających na uzupełnienie informacji na temat biowęgla jest ocena ich toksyczności. Szczególnie niewiele w literaturze jest informacji, jak rodzaj materiału z którego otrzymano biowęgiel, temperatura jego wytwarzania a także dostępność tlenu wpływa na toksyczność biowęgla.

Celem badań była ocena toksyczności biowęgla za pomocą testu PHYTOTOKKIT F™. W ramach badań oceniano wpływ biowęgla na zdolność kiełkowania i zahamowanie wzrostu korzenia *Lepidium sativum*. Do badań wybrano biowęgle otrzymane z różnych materiałów wyjściowych (miskantus, słoma z pszenicy, wiklina, ślazowiec pensylwański), w różnych temperaturach (500, 600 i 700°C) i przy różnym dostępie tlenu (0, 0,5, 1, 2%). Fitotoksyczność biowęgla badano stosując go do gleby OECD w dawce 0,5% i 5%.

Wpływ biowęgla zarówno na zahamowanie kiełkowania jak i wzrostu korzeni był zróżnicowany. Biowęgle otrzymane bez dostępu tlenu w zależności od dawki, temperatury i rodzaju materiału wyjściowego hamowały wzrost korzeni maksymalnie na poziomie 59,8%. W wielu przypadkach obserwowano stymulujący wpływ biowęgla. Zahamowanie kiełkowania nasion *L. sativum* wahało się od 0 do 30%. Zwiększenie udziału tlenu podczas pirolizy, w większości przypadków wpłynęło pozytywnie na wzrost długości korzeni w stosunku do biowęgla otrzymanych bez dostępu tlenu. W tym przypadku zahamowanie wzrostu korzeni wahało się od -26,5% (stymulacja wzrostu) do 27,5%. Zahamowanie kiełkowania nasion *L. sativum* wynosiło od 0 do 20%. Istotnym jest fakt, iż dla biowęgla otrzymanych bez dostępu tlenu, w większości przypadków zwiększenie jego dawki z 0,5% do 5% powodowało jednocześnie zwiększenie jego toksyczności. Odwrotną tendencję zaobserwowano natomiast w odniesieniu do biowęgla otrzymanych w warunkach tlenowych. W tym przypadku 5% dodatek biowęgla zwiększał pozytywny wpływ biowęgla na *L. sativum* w stosunku do dawki 0,5%.

Badania wykonano w ramach grantu PSPB-135/2010

Prolina jako wskaźnik stresu oksydacyjnego w roślinie wywołanego NaF

M. ŚNIOŚZEK, B. SMOLIK, J. PELC, M. SĘDZIK

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa,
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie,
Słowackiego 17, 71-434 Szczecin
msnioszek@zut.edu.pl

Słowa kluczowe: *fluorek sodu, prolina, stres oksydacyjny, pszenica*

Na podstawie zmian w zawartości antyoksydantów nieenzymatycznych czy aktywności enzymów antyoksydacyjnych, można wnioskować o występowaniu stresu oksydacyjnego w roślinie. Wiele badań wskazuje na zwiększone powstawanie RFT w wyniku: zanieczyszczania środowiska np. związkami fluoru (Li i in., 2011).

Istnieje wiele parametrów biochemicznych uznawanych za dobre wskaźniki stresu oksydacyjnego w roślinie. Wiele badań wskazuje, że jednym z nich jest zawartość proliny, która kumuluje się w tkankach roślin w wyniku stresu oksydacyjnego (Alia i in., 1995). Kumulacja ta ma związek z ochroną przed reaktywnymi formami tlenu (RFT; Saradhi i in., 1995; Shevyakova i in., 2009), poprzez „gaszenie” tlenu singletowego (Alia i in., 2001) i zmiatanie rodnika hydroksylowego (Smirnoff i Cumbes, 1989), a co za tym idzie zapobieganie przed peroksydacją lipidów (Alia i in., 1991). Gill i Tuteja (2010) zaliczyli wolną prolinę do nieenzymatycznych antyoksydantów, co stawia ją na równi z innymi parametrami stresu oksydacyjnego takimi jak glutation czy askorbinian.

W przeprowadzonym doświadczeniu do plastikowych szalek Petriego wyłożonych krążkiem z bibuły Whatman 2, wysiano nasiona pszenicy (odmiana Bryza) które wcześniej przez 24 h moczo w różnych roztworach fluorku sodu. Stężenia NaF zastosowane w doświadczeniu to 0,1 mM, 1 mM, 10 mM, 20 mM, 100 mM, 200 mM. Rośliny rosnące bez dodatku fluorku sodu stanowiły próby kontrolne. Szalki umieszczono pod lampą sodową Son-T Agro 400W firmy Philips. Natężenie światła wynosiło 90 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PAR (promieniowania fotosyntetycznie czynnego). Fotoperiodyzm ustawiono na 12 godzin dnia i nocy. Rośliny podlewano wodą dejonizowaną. W 7. dniu od założenia doświadczenia, pobrano świeżą tkankę roślinną, w której oznaczono zawartość wolnej proliny. Z każdego trzech pojemników w danej serii pobrano próbę zbiorczą. Wszystkie analizy wykonano w 3 powtórzeniach. Zawartość wolnej proliny oznaczono metodą Batesa i in. (1973), polegającą na pomiarze absorbancji, wyekstrahowanego toluenem barwnego kompleksu proliny i kwaśnej ninhydryny, przy długości fali $\lambda=520\text{ nm}$. Tkanekę roślinną (0,5 g) zhomogenizowano z 10 cm^3 kwasu sulfosalicylowego (3%). Zawartość proliny przeliczono z krzywej wzorcowej i wyrażono w $\mu\text{mol Pro}\cdot\text{g}^{-1}$ ś.m. rośliny.

Zaobserwowano wzrost wolnej proliny w tkankach badanych roślin potraktowanych fluorkiem sodu w porównaniu do roślin kontrolnych. Zmiany zawartości badanego parametru zależne były od zastosowanego stężenia NaF. Najwyższe zawartości proliny zaobserwowano w roślinach potraktowanych najwyższymi stężeniami NaF, najniższe dla dawki 1 mM. Wydaje się, że prolina może być wskaźnikiem stresu oksydacyjnego w roślinie wywołanego między innymi NaF, jednak wymagane są dalsze badania w tej dziedzinie.

Inni badacze również zaobserwowali wzrost zawartości proliny w roślinie pod wpływem różnych czynników stresowych, w tym również NaF (Datta i in., 2011; Li i in., 2011). W pszenicy, w wyniku stresu wodnego, zaobserwowano spadek peroksydacji lipidów, przy jednoczesnym wzroście zawartości wolnej proliny, co sugeruje udział tego aminokwasu w nieenzymatycznym usuwaniu wolnych rodników i ochronie lipidów błony komórkowej

przed utlenianiem (Alia i in., 1995; Vendruscolo i in., 2007). Akumulacja proliny w warunkach silnego i długotrwałego stresu, może być również spostrzegana jako objaw niekorzystnych zmian, takich jak rozpad białek czy chlorofilu (Bandurska, 1991). Wzrost zawartości proliny w tkankach organizmów żywych jest tematem ciągłej dyskusji, w której badacze zastanawiają się czy jej akumulacja jest reakcją na stresy abiotyczne, czy może wynika z odporności i tolerancji roślin na stresy (Ozden i in., 2009) i czy jej akumulacja jest toksyczna dla organizmu (Nanjo i in., 2003).

Monitoring biologiczny starorzeczy Słupi w bezpośrednim sąsiedztwie drogi ekspresowej S6 (węzeł Kobylnica)

MARTA SZYNSZECKA*, KRYSTIAN OBOLEWSKI

Zakład Ekologii Instytutu Biologii i Ochrony Środowiska, Akademia Pomorska w Słupsku,
ul. Arciszewskiego 22b 76-200 Słupsk

e-mail: marta_szynszecka@o2.pl

Słowa kluczowe: starorzecza, makrozoobentos, biomonitoring

Starorzecza stanowią istotny element każdej doliny rzecznej, gdyż mają one kluczowe znaczenie dla zachowania jej bioróżnorodności. Z tego też powodu w dolinie rzeki Słupi projektowany jest specjalny obszar ochrony siedlisk PLH220052, który będzie obejmował m.in. mokradła objęte ochroną jako priorytetowe siedliska przyrodnicze 3150 w ramach sieci Natura 2000. Siedlisko to obejmuje szeroką grupę zbiorników wodnych o różnym statusie troficznym (głównie: mezo- i eutroficznych) oraz różnej genezie. Starorzecza zaliczane do siedliska typu 3150 to zbiorniki wód stagnujących, niepozostające w trwałym połączeniu z rzeką, jednak w wyjątkowych sytuacjach dopuszcza się ich połączenie z rzeką, o ile połączenie to jest niewielkie, a oddziaływanie rzeki jest tylko okresowe i duża część starorzecza wykazuje cechy wód stagnujących. Ponadto o przynależności zbiorników wodnych do siedliska 3150 decyduje obecność roślin dla niego typowych m.in.: moczarka kanadyjska *Elodea canadensis*, grążel żółty *Nuphar lutea*, grzybienie białe *Nymphaea alba*, rdestnica pływająca *Potamogeton natans*, czy osoka aloesowata *Stratiotes aloides*. Oprócz tego wody, podobnie jak w jeziorach eutroficznych, charakteryzują się znaczną zawartością związków pokarmowych, co jest związane ze sposobem zasilania. Pojawia się także duży zakres zmienności w odczynie wody (pH 6,5 - 9,0) oraz przewodnictwie elektrolitycznym (300 - 900 $\mu\text{S cm}^{-1}$).

W dolinie Słupi zinwentaryzowano 50 starorzeczy, będących efektem prowadzonych na początku lat 20-tych prac regulacyjnych. Ich stan zachowania jest w dużej mierze uzależniony od poziomu łączności z rzeką oraz częstości i wielkości wezbrań (ang. flood pulse). Oprócz tego istotnym czynnikiem wpływającym na kondycję ekologiczną tych zbiorników jest presja człowieka wykorzystującego starorzecza jako odbiorniki zanieczyszczeń, stawy hodowlane itp. Doliny rzeczne są też często miejscem wykonywania prac związanych z budową dróg i autostrad. Wraz z rozwojem infrastruktury drogowej i rozbudowy dróg szybkiego ruchu doliny rzeczne i siedliska w nich występujące zostały narażone na intensyfikacyjny czynnik antropogeniczny. Taka sytuacja dotyczy również doliny Słupi i jej starorzeczy w związku z budową odcinka drogi szybkiego ruchu S6 na trasie Reblinko – Redzikowo (obwodnica Słupska). Od 2008 roku prowadzono roboty budowlane, które na węźle Kobylnica przecięły dolinę rzeczną wraz ze starorzeczami. Od momentu oddania obwodnicy do użytku w 2010 roku występuje stała presja antropogeniczna na ten fragment doliny rzecznej.

Badania nad wpływem infrastruktury drogowej (odcinka drogi ekspresowej S6) na fragment doliny Słupi prowadzono w sezonie letnim i jesiennym 2013 roku. Do badań wytypowano trzy starorzecza położone w bezpośrednim sąsiedztwie drogi. Zbiorniki te różniły się poziomem łączności z korytem rzeczny: OLS 7 to zbiornik zamknięty (lenticzny), a OLS 8 i OLS 9 to starorzecza półotwarte (semi-lotyczne), połączone górnym ramieniem z rzeką. W celu oceny statusu ekologicznego badanych zbiorników do badań monitoringowych wybrano bezkręgowce denne traktując je jako „idealny organizm wskaźnikowy” zgodnie ze wskazaniami Ramowej Dyrektywy Wodnej. Zgrupowania bezkręgowców dennych dostarczają bowiem użytecznych informacji o kondycji środowiska,

w tym zbiorników wodnych, które pozwalają zidentyfikować potencjalne zagrożenia i opracować metody ochrony tych ekosystemów.

Wyniki badań wskazują, że mimo bezpośredniej bliskości drogi starorzecza posiadające łączność hydrologiczną z rzeką mają lepszą kondycję ekologiczną niż zbiorniki zamknięte. Obecność silnego czynnika antropogenicznego jakim jest droga, nie ma bezpośredniego przełożenia na stan ekologiczny starorzeczy. Większość wyliczonych wskaźników biomonitoringu opartych na bezkręgowcach dennych osiąga wyższą wartość w OLS 8 i OLS 9, niż w OLS 7. Wskaźnik bioróżnorodności Margalefa (d) dla badanych zbiorników osiąga wartość: OLS 7 – 0,82, OLS 8 – 1,38, a OLS 9 – 1,52. Wskaźnik BMWP-PL osiąga najwyższą wartość dla OLS 8 – 51, natomiast w OLS 9 – 41, a w OLS 7 – zaledwie 9. Wskaźniki ASPT i OQR kształtują się dokładnie w ten sam sposób, osiągając wartości: dla OLS 8 – ASPT = 3,64, OQR = 6, dla OLS 9 – ASPT = 3,15, OQR = 4,5, natomiast dla OLS 7 – ASPT = 1,29, OQR = 1,5. Jedynie wskaźnik równocенności i wskaźnik różnorodności biologicznej Shannona (H') osiąga wyższe wartości w OLS 7 niż w OLS 8. Wartości wskaźnika równocенności kształtują się następująco: OLS 7 – 0,49, OLS 8 – 0,32, OLS 9 – 0,66, natomiast wartość wskaźnika Shannona wynosiła: dla OLS 7 – 0,94, dla OLS 8 – 0,84, a dla OLS 9 – 1,70. W oparciu o wartości poszczególnych wskaźników wyznaczono dla każdego starorzecza ogólną klasę czystości wód: OLS 7 – klasa V, OLS 8 i OLS 9 – klasa IV. Klasy czystości wód oraz wartości wskaźników wskazują na to, iż najistotniejszym czynnikiem mającym wpływ na stan ekologiczny starorzeczy ma łączność z korytem rzeczonym. Im stopień tej łączności jest mniejszy, tym szybciej zbiorniki te ulegają procesom sukcesji, co powoduje ich powolne zanikanie i zubożenie różnorodności biologicznej dolin rzecznych. Z tego też powodu mokradła powinny zostać objęte monitoringiem na obszarze całej Polski.

Ocena wpływu drogi ekspresowej S6 na stan ekologiczny wybranych starorzeczy Słupi w oparciu o strukturę fauny naroślinnej.

WIRKUS AGNIESZKA, OBOLEWSKI KRYSTIAN
Zakład Ekologii Instytutu Biologii i Ochrony Środowiska,
Akademia Pomorska w Słupsku,
ul. Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk,
e-mail: agnieszka.wirkus.92@wp.pl

Słowa kluczowe: fauna naroślinna, Stratiotes aloides, starorzecza

Starorzecza to siedliska priorytetowe (3150) w programie Natura 2000. Są to niewielkie zbiorniki wodne, znajdujące się w dolinie rzecznej, trwale połączone, okresowo lub całkowicie oddzielone od rzeki. Powstają poprzez przerwanie i odizolowanie szyi meandru lub przez oddzielenie od rzeki wałem przykorytowym w trakcie wezbrań. Starorzeczem mogą być też fragmenty dawnego koryta rzeki, które jest połączone trwale lub okresowo z funkcjonującym korytem rzeki. Głębokość oraz powierzchnia starorzeczy jest zmienna w czasie, ponieważ podlegają zasypywaniu materiałem naniesionym przez rzeki podczas wezbrań, a także zarastaniu.

W starorzeczu najczęściej spotykany jest grązel żółty, grzybień biały, zabiściek pływający oraz osoka aloesowata, która ma największy udział w tworzeniu fitocenoz. Jest to idealne siedlisko dla fauny bezkręgowej, której struktura jakościowo ilościowa może być wykorzystywana w ocenie stanu ekologicznego ekosystemów wodnych.

Rozwój infrastruktury drogowej w naszym kraju musi powodować wzrost antropopresji na środowisko przyrodnicze w tym przecinane doliny rzeczne. W Dolinie Słupi od 2008 roku prowadzono roboty budowlane dotyczące obwodnicy Słupska S6. Fragment tej drogi przeciął dolinę rzeczna, na której znajdują się liczne starorzecza. Po oddaniu w 2010 roku drogi do użytkowania istnieje stała presja na te zbiorniki wodne. W celu oceny stanu ekologicznego wybranych starorzeczy będących w bezpośrednim sąsiedztwie drogi S6.

Badania nad oddziaływaniem drogi szybkiego ruchu S6 na stan starorzecza prowadzono latem i jesienią 2013 roku. Do badań wybrano dwa starorzecza o odmiennym poziomie łączności z rzeką. Starorzecze OLS 7 to zamknięty zbiornik posiadający ograniczony poziom kontaktu z rzeką do okresu wezbrań. OLS 9 to zbiornik półotwarty połączony z rzeką poprzez ramię górne. Do analiz wybrano faunę naroślinną zasiedlającą *Stratiotes aloides*, makrofity występujący obficie w obu zbiornikach. W pracy przeanalizowano strukturę makrofauny epifitycznej. Większą liczbę zebranych taksonów odnotowano w starorzeczu OLS 7. Najlichnieszą grupą zwierząt epifitycznych zasiedlających osokę w badanych starorzeczach były Gastropoda, a w faunie minującej larwy Chironomidae. Gastropoda były reprezentowane głównie przez *Lymnaea (Radix) peregra*, natomiast wśród larw minujących dominowały *Polypedilum* sp.

Do badania wykorzystano wskaźniki biomonitoringowe oraz wskaźniki zoocenotyczne. Obliczono wartość indeksu BMWP-PL, który dla całego starorzecza OLS 7 wyniósł 56, a dla poszczególnych punktów na starorzeczu powyżej 30. Wskaźnik ASPT w starorzeczu wyniósł 1,93, a OQR 4,5, co określa jakość wód jako dobrą. W OLS 9 wartość indeksu BMWP-PL wyniosła 43, natomiast na poszczególnych punktach starorzecza wynosiła 18 w środku i 34 w ramieniu dolnym starorzecza. Wskaźnik ASPT dla całego starorzecza wyniósł 2,15, a wskaźnik OQR równy był 4, co świadczy o dobrej jakości wody w zbiorniku.

Wskaźniki zoocenotyczne takie jak wskaźnik różnorodności biologicznej Shannona, który wyższy był w starorzeczu OLS 9 i wyniósł ponad 5, wskaźnik bioróżnorodności

Margalefa, również wyższy w OLS 9. Najwyższe wartości wskaźnika Q „znaczenia ekologicznego” dotyczą fauny minującej w obu starorzeczach.

Zebrana epifauna posłużyła do oceny biologicznego stanu jakości wód badanych zbiorników. Wskaźniki, które zostały wykorzystane w badaniach starorzeczy doliny Słupi klasyfikują wody obu starorzeczy do III klasy czystości.

Klasyfikacja obrazu w monitoringu biologicznym

M.PAWUL*, M.ŚLIWKA*,

^{*)}AGH Akademia Górniczo-Hutnicza im. St. Staszica w Krakowie

Wydział Górnictwa i Geoinżynierii, Katedra Inżynierii Środowiska i Przeróbki Surowców

e-mail: pawul@agh.edu.pl , sliwka@agh.edu.pl

Słowa kluczowe: bioindykacja, monitoring biologiczny, analiza obrazu, klasyfikacja obrazu, sieci neuronowe

Monitoring biologiczny umożliwia ocenę stanu środowiska przyrodniczego na podstawie reakcji organizmów żywych. Wśród metod monitoringu biologicznego wyróżnić można: metody ekologiczne, polegające na obserwacji organizmów w ich środowisku naturalnym; metody fizjologiczne i biochemiczne, które polegają na ocenie stymulacji bądź zahamowania wybranych procesów fizjologicznych lub biochemicznych (np. fotosynteza, zużycie tlenu, procesy enzymatyczne); testy biologiczne; ocena stopnia bioakumulacji; metody histologiczne i morfologiczne, które umożliwiają ocenę anomalii morfologicznych (również anomalii embriologicznych) oraz metody oparte na wykorzystaniu biosensorów do pomiarów ciągłych *in situ*. Zmiany w morfologii organizmów testowych pozwalają na ocenę wpływu zanieczyszczeń, w tym przede wszystkim antropogenicznych na środowisko. Do oceny zmian cech morfologicznych oraz oceny liczebności badanych obiektów przydatne są metody komputerowej analizy obrazu i klasyfikacji obrazu. Metody analizy obrazu pozwalają na wyodrębnienie pewnych cech obrazu, np. obszarów o określonej barwie, co pozwala na pomiar wybranych właściwości biowskaźników. Klasyfikacja obrazu polega natomiast na określeniu przynależności danego obiektu (na podstawie wybranych cech) do jednej z predefiniowanych klas, np. określających stopień zanieczyszczenia środowiska. Wśród biotestów, w których wykorzystuje się komputerową analizę obrazu wymienić można testy oparte na pomiarze fluorescencji (np. dla *Chlorella vulgaris*), nieinwazyjnej ocenie wzrostu (dla *Daphnia Magna*), przyrostu biomasy (*Lemna minor*), ocenie zmian morfologicznych (*Hydra attenuata*) oraz testów opartych na ocenie rizogenezy roślin testowych.

Analizie poddawane są cyfrowe dwuwymiarowe obrazy o określonej szerokości i wysokości (w pikselach). Najprostszymi do analizy są obrazy czarno-białe (kodowanie 0-1) lub w skali szarości (zazwyczaj stopień szarości każdego piksela opisany jest liczbą z zakresu 0-255). W przypadku kodowania barw obrazu wykorzystywany jest model RGB lub HSV.

We wstępnej fazie analizowania obrazów należy poprawić ich jakość. Do poprawy jakości obrazu stosowane są różnorodne przekształcenia: geometryczne (np. obroty, skalowanie), punktowe (logiczne, arytmetyczne, anamorficzne), kontekstowe (np. filtracja), morfologiczne (np. szkieletyzacja).

Obraz wejściowy, który poddawany jest analizie zawiera charakterystyczne obiekty (np. obiekty zabarwione na zielono w przypadku testów z rzęsą wodną) oraz artefakty. Każdemu punktowi obrazu można przypisać pewien wektor cech, zawierających, m.in. kolor, nasycenie czy poziom jasności. Istnieje wiele możliwości wybrania wektora cech, jednak wartości składowych dla różnych obszarów powinny być zróżnicowane. W celu analizy obrazów należy wyodrębnić istotne informacje zawarte w obiekcie wejściowym. Technika umożliwiającą wydzielenie jednorodnych obszarów (pod względem koloru, faktury czy skali szarości) jest segmentacja obrazu, która stanowi jeden z najważniejszych etapów analizy obrazu. Najczęściej stosowaną techniką segmentacji jest progowanie jasności każdego punktu na podstawie histogramu rozkładu jasności. Binaryzacja jest szczególnym przypadkiem progowania. Polega na zamianie obrazu mającego wiele poziomów szarości na obraz, którego

piksele mają wartość 0 lub 1. Inną grupą technik to segmentacja oparta na obszarach: jego podział lub rozrost. Kolejną grupę stanowi segmentacja oparta na detekcji krawędzi.

Zazwyczaj segmentacji towarzyszy proces indeksacji wydzielonych obiektów. W kolejnym etapie analizy obrazu należy dokonać pomiarów wybranych cech obiektów, np. liczebności elementów, pola powierzchni, rozkładu stopni szarości itd.

Podsumowując, proces analizy obrazu można przedstawić w kilku etapach:

- 1) Wczytanie obrazu wejściowego i wstępne przetwarzanie (konwersja przestrzeni barw, poprawa jakości obrazu)
- 2) Proces segmentacji (klasyfikacja każdego piksela poprzez wyznaczenie wartości wektora cech dla składowych).
- 3) Etykietowanie i pomiar cech charakterystycznych.

Mając pomiary cech charakterystycznych można dokonać klasyfikacji obrazów za pomocą sztucznych sieci neuronowych (ANN). Sieci te posiadają zdolność przetwarzania informacji, mogą wykryć różnorodne zależności przy wykorzystaniu niepełnych danych. Istnieje wiele rodzajów sieci, które różnią się między sobą strukturą i zasadą działania. Często stosowanym modelem sieci neuronowych są wielowarstwowe sieci nieliniowe (perceptron wielowarstwowy) składające się z warstw neuronów: wejściowej - służącej do wprowadzania do sieci danych wejściowych, ukrytych – przetwarzających sygnały w celu wydobywania danych pośrednich koniecznych do wyznaczenia końcowego rozwiązania, wyjściowej – wyznaczającej końcowe rozwiązanie. Określenie właściwej liczby warstw i neuronów budujących warstwę stanowi bardzo ważny etap całego procesu konstruowania sieci. Do rozwiązania większości problemów klasyfikacji wystarczy jedna warstwa ukrytych neuronów. Liczba neuronów w warstwie wejściowej jest równa liczbie składowych w wektorze cech, zaś w warstwie wyjściowej jest równa liczbie predefiniowanych klas. Po określeniu odpowiedniej struktury sieci następuje proces uczenia różnymi metodami (np. metoda wstecznej propagacji błędów, gradientów sprzężonych). Olbrzymia popularność sieci neuronowych oraz ich szerokie możliwości stosowania doprowadziły do pojawienia się oprogramowania do modelowania sieci neuronowych. Godnym polecenia jest pakiet Statistica Neural Networks.

Przeprowadzenie analizy obrazu i wykorzystanie sieci neuronowych w celu ich klasyfikacji pozwala na automatyzację procesu oceny i interpretacji wyników prowadzonych biotestów.

LITERATURA:

1. Beninghoff C., Dobrowolski J. W., Dominik J., Guéguen C., Pardos M, Thomas R. L., Wagner A, Wiącek-Rosińska A. 1998. Zastosowanie wybranych biotestów w monitoringu skażeń wód. II Forum Inżynierii Ekologicznej, Monitoring Środowiska, red. I. Wiatr and H. Marczak. Nałęczow. s. 494-498.
2. Kwiecień J., Pawul M. 2012. Application of artificial neural networks to spring water quality prediction. Polish Journal of Environmental Studies, 21, 5A, str. 271-275.
3. Lewicki P. 2002. Możliwości wykorzystania analizy obrazu w ekotoksykologii. Inżynieria Środowiska VII tom 2 AGH Kraków
4. Lewicki P. 2006. Komputerowa analiza obrazu w wybranych biotestach dla oceny jakości wód. Rozprawa doktorska. AGH, Kraków.
5. Mikrut Z., Tadeusiewicz R. 2000. Sieci neuronowe w przetwarzaniu i rozpoznawaniu obrazów. Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna, t.6. 459-493, Sieci neuronowe. AOW EXIT Warszawa.
6. Śliwka M. 2007. Zastosowanie biostymulacji laserowej wybranych gatunków hydrofitów do zwiększenia ich zdolności bioremediacyjnych. Rozprawa doktorska. AGH, Kraków.
7. Tadeusiewicz R. 1993 Sieci neuronowe. Akademicka Oficyna Wydawnicza, Warszawa,
8. Tadeusiewicz R., Korohoda P. 1997, Komputerowa analiza i przetwarzanie obrazów. Wyd. Fundacji Postępu Telekomunikacji, Kraków.

Znaczenie peryfitonu porastającego trzcinę w utrzymaniu bioróżnorodności zbiorników wodnych- studium przypadku jeziora Kortowskiego

NINA BORYSIUK¹, KRYSTIAN OBOLEWSKI¹, JULITA DUNALSKA²

Zakład Ekologii Instytutu Biologii i Ochrony środowiska, Akademia Pomorska w Słupsku,
ul. Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk,

e-mail: ninaborysiuk@tlen.pl, obolewsk@apsl.edu.pl

Katedra Inżynierii i Ochrony Wód, Wydział Nauk o Środowisku, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, ul. Prawocheńskiego 1,

e-mail: julita.dunalska@uwm.edu.pl

Trzcina pospolita (*Phragmites australis* Trin. Ex. Steud.) należy do gatunków kosmopolitycznych, bardzo odpornych na zmieniające się warunki środowiskowe makrofity. W Polsce rozległe pola trzciny obejmują obszary wzdłuż linii brzegowych płytkich zbiorników słodko- i słonawowodnych, w tym wewnętrznych wód morskich. Strefa litoralu porastana przez trzcinę często traktowana jest jako buforowa przed spływającymi do zbiornika zanieczyszczeniami. Jest to spowodowane możliwością akumulacji przez tego makrofita biogenów i metali ciężkich. Pomija się przy tym fakt, że zanurzone pędy trzciny stanowią idealne podłoże do rozwoju organizmów perifitonowych, które także wpływają efektywność procesów doczyszczania w strefie szuwarów.

Badanie zespołu drobnych organizmów żywych zasiedlających stałe podłoże wytworzone z trzciny (*Phragmites australis*) w jeziorze Kortowskim przeprowadzono sezonowo w 2011 roku. Badania prowadzono na jeziorze Kortowskim (21°27'E, 53°46'N). Jest to jezioro należące do kompleksu zbiorników położonych w miejscowości Olsztyn, na Pojezierzu Mazurskim. Na jeziorze wyznaczono 8 stanowisk pomiarowych rozmieszczonych dokoła zbiornika w trzcinowiskach. W każdym miejscu wycinano po trzy pędy trzciny, z których pozyskiwano trzy fragmenty obejmujące: strefę przydenną, środkową i przypowierzchniową. Do poboru prób wykorzystano zmodyfikowany czerpacz Epikorn. W laboratorium zdrapywano peryfiton i określano zagęszczenie organizmów poroślowych z podziałem na mikrofitoperyfiton, mikrozooperifiton i makrozooperifiton. Wśród zwierząt dokonywano analiz z uwzględnieniem troficznych grup funkcjonalnych (TGF). Celem badania było dokonanie charakterystyki organizmów poroślowych zasiedlających trzcinę pospolitą w jeziorze Kortowskim w ujęciu TGF.

Trzcina pospolita *Phragmites australis*, zasiedlana była przez glony, wśród których przeważały Bacillariophyta oraz w mniejszym stopniu Chlorophyta, oraz Cyanobacteria. Okrzemki stanowiły 96% fitoperyfitonu, z dominacją form jednokomórkowych 85,2%. Wiosną i latem zauważalny był wzrost obecności Chlorophyta, które były w tym okresie stałymi komponentem frakcji roślinnej perifitonu.

W mikroperifitonie zaobserwowano obecność ośmiu taksonów, wśród których największą zagęszczenie osiągnęły Nematoda 41 134,1 osobn. m⁻², Peritricha 30 6465,5 osobn. m⁻² oraz widłonogi Copepoda 1 383,9 osobn. m⁻².

Analiza TGF wykazała, że zbieracze reprezentowani byli przez ameby oskorupione i larwy muchówek. Średnia liczebność Testacea wyniosła 49 osobników m⁻², przy stałości występowania 12,5 %. Obficie występowały larwy Chironomidae, których zagęszczenie przekroczyło 220 osobników m⁻². Sedymentatory czyli organizmy pobierające z toni wody seston, reprezentowane były przez Peritricha oraz Rotifera. Zarówno orzęski jak i wrotki stanowiły niezmiernie istotny ekologicznie składnik peryfitonu. Jedynie wiosną ich udział w perifitonie był mniejszy. Grupę organizmów, które uzyskują pokarm w różny sposób reprezentowały Nematoda, która stale występuje w trzcinie (Fr = 55,6%). Gatunkami przypadkowymi w badanych próbach są ameby oskorupione Testacea (0,4%), Rotifera

(4,6%), Chaetogaster (2,4 %), inne Oligochaeta (4,7%), Harpacticoida (5,3%), nauplius (1,7%), *Chydorus sphaericus* (0,3%) oraz Cyanobacteria (0,9%). Do gatunków akcesorycznych zaliczono Nematoda (29,6%) wraz z okrzemkami kolonijnymi (44,6%) i zielenicami (41,5%). W skład taksonów, które charakteryzują się absolutnie stałym występowaniem wchodzi Peritricha (93,3%), Chironomidae larvae (100%), oraz okrzemki pojedyncze (84,8%)

Niewątpliwie rolą trzcinowisk jest zdolność zabezpieczenia zbiornika wodnego przed dopływającymi zanieczyszczeniami. Efektywność tego procesu jest wzmacniana przez porastające trzcinę organizmy poroślowe (perifiton). Znaczący udział sedymentatorów w peryfitonie wskazuje na eliminację sestonu z wód jeziora Kortowskiego w strefie szuwaru trzcinowego.

Wpływ zeolitów na wzrost i rozwój testera biologicznego pieprzycy siewnej *Lepidium sativum*

WERONIKA KOWALIK, KINGA PACHUTA, MONIKA GOSZCZYŃSKA

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska

Katedra Kształtowania Środowiska

weronika85sier@interia.pl

Słowa kluczowe: tester biologiczny, pieprzycy siewna, zeolity, ocena jakości środowiska.

Celem badań jest określenie wpływu zeolitów na proces kiełkowania i początkowego rozwoju roślinnego testera biologicznego *Lepidium sativum*. Założono, że dla potrzeb utrzymania, ochrony i rekultywacji ekosystemów ważne są zarówno możliwości zastosowania zeolitów, jak i zakres ich tolerowania przez rośliny służące w rekultywacji.

Eksperyment prowadzono przez 6 dni w marcu 2013r. w laboratorium Ekologii Systemów Wodnych Centrum Naukowo-Dydaktycznego Wydziału Budownictwa i Inżynierii Środowiska Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego. Do założenia hodowli pieprzycy ogrodowej *Lepidium sativum* użyto 56 płytek Petriego. W każdej płytce znajdowało się 10 nasion pieprzycy siewnej. Próby zerowe została wykonana na bibule filtracyjnej. Do prób badawczych użyto podłoża w następujących wariantach: ziemia uniwersalna (G), zeolit drobnoziarnisty (ZI), zeolit gruboziarnisty (ZII), zeolit drobnoziarnisty z keramzytem (ZIII), zeolity z ziemią uniwersalną w stosunku 50:50 (odpowiednio ZI+G, ZII+G, ZIII+G).

Na próbie kontrolnej 100 % zdolność kiełkowania wystąpiła w II dobie, a na podłożu glebowym (G) w III dobie. Na zeolicie drobnoziarnistym z ziemią uniwersalną (ZI+G) 100 % zdolność kiełkowania wystąpiła w I dobie, a na zeolicie drobnoziarnistym (ZIII) – dopiero w V dobie.

Podczas porównania wybranych parametrów wzrostowych (średnia liczba nasion wykiełkowanych, wysokość pędów) dla poszczególnych dób stwierdzono nieznaczne różnice. Na wszystkich podłożach nasiona kiełkowały. Najlepsze efekty uzyskano na mieszance zeolitu drobnoziarnistego z keramzytem (ZIII).

Reasumując, przeprowadzony test biologiczny potwierdził nieszkodliwość badanych zeolitów dla zastosowanego testera. Wskazane jest powtórzenie badania z udziałem innych testerów roślinnych.

Wpływ herbicydu Devrinol 450 SC na wybrane procesy oksydoredukcyjne w glebie lekkiej

MIROSLAW ONYSZKO, MICHAŁ STREK, ARKADIUSZ TELESIŃSKI

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii,
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin
e-mail: mirosław.onyszko@zut.edu.pl

Słowa kluczowe: napropamid, oksydaza o-difenolowa, katalaza, potencjał oksydoredukcyjny, gleba

Devrinol 450 SC jest środkiem chwastobójczym, koncentratem w formie stężonej zawiesiny do rozcieńczania wodą. Stosowany jest on dogłębowo w celu zwalczania chwastów jednoliściennych i niektórych dwuliściennych w uprawie m.in. rzepaku ozimego, pomidora, kapusty głowiastej i truskawki. Substancją aktywną tego preparatu jest napropamid (*N,N*-dietylo-2-(1-naftalenyloksy)-propionoamid), związek z grupy amidów, którego okres połowicznego rozpadu w glebie wynosi 43-70 dni.

Gleba stanowi główny rezerwuár kumulujący pozostałości środków ochrony roślin, które ulegają w niej licznym przemianom biotycznym i abiotycznym. Zanieczyszczenie gleb pestycydami często wiąże się także, raczej z produktami ich rozpadu, których obecności nie zawsze możemy stwierdzić i przewidzieć jak działają na mikroflorę glebową.

Obok szeregu zjawisk fizycznych i chemicznych, to rozkład mikrobiologiczny jest głównym sposobem zanikania pozostałości herbicydów w glebie. Spowodowany jest on wydzielaniem m.in. enzymów oksydoredukcyjnych powodujących np. utlenianie łańcuchów węglowodorowych czy epoksydację, hydroksylację oraz rozszczepienie pierścieni aromatycznych.

Oksydoreduktazy tworzą klasę enzymów o wysokiej specyficzności, katalizujących reakcje oksydoredukcyjne zachodzące w każdej żywej komórce. Do głównych enzymów z tej klasy, występujących w glebie zaliczamy dehydrogenazy, katalazę i oksydazy polifenolowe. Aktywność dehydrogenaz związana jest z czynnością wielu enzymów lub systemów enzymatycznych, powszechnie występujących w drobnoustrojach glebowych. Czynne dehydrogenazy występują w glebie jako integralna część nienaruszonych komórek. Funkcja katalazy związana jest z ochroną komórki przed toksycznym działaniem nadtlenu wodoru, produktu ubocznego przemian zachodzących w warunkach tlenowych. Podstawową funkcją oksydaz polifenolowych w glebie jest katalizowanie niespecyficznych reakcji polimeryzacji, depolimeryzacji i transformacji związków fenolowych. Aktywność oksydoreduktaz powiązana jest ściśle z wielkością potencjału redox (Eh), będącego formalną miarą aktywności elektronów w roztworze glebowym.

Celem podjętych badań było określenie oddziaływania herbicydu Devrinol 450 SC na aktywność oksydazy o-difenolowej, katalazy oraz wielkość potencjału redox w glebie.

Doświadczenie przeprowadzono w laboratorium Katedry Fizjologii Roślin i Biochemii Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, na próbkach gleby pobranych z poziomu ornopróchicznego gleb brunatno-rdzawych RSD w Lipniku (woj. zachodniopomorskie). Gleby te charakteryzują się składem granulometrycznym piasku gliniastego oraz zawartością C_{org} 0,87%.

Do części ziemistych materiału glebowego wprowadzono wodne emulsje herbicydu Devrinol 450 SC w ilościach: połowa dawki polowej – 0,5FD, dawka polowa (zalecana przez producenta) – 1FD, dawka dwukrotnie większa – 2FD, dawka czterokrotnie większa – 4FD. Ilość herbicydu przeliczono na 1 kg gleby, przyjmując jej miąższość 10 cm. Punktem

odniesienia była gleba bez dodatku herbicydu. Próbkę glebową przechowywano w szczelnie zamkniętych workach polietylenowych w ciemności, w warunkach optymalnych (60% m.p.w. i 20°C). W trakcie trwania doświadczenia w 1., 7., 14., 28., 56. dniu oznaczono spektrofotometrycznie aktywność oksydazy o-difenolowej, manganometrycznie aktywność katalazy oraz elektrochemicznie wartość Eh w zawiesinie glebowej o stosunku fazy stałej do ciekłej 1:1 (w/w). Do analiz spektrofotometrycznych wykorzystano spektrofotometr UV-1800 firmy Shimadzu, a do oznaczeń elektrochemicznych uniwersalny miernik multiparametryczny ADWA 8000.

Analizując otrzymane wyniki badań stwierdzono, że w większości przypadków wprowadzenie herbicydu spowodowało istotne zmiany procesów oksydoredukcyjnych gleby. Wielkość oraz charakter zmian zależne były zarówno od badanego parametru, dawki herbicydu oraz dnia doświadczenia. Otrzymane wartości rzeczywiste przeliczono w stosunku do gleby kontrolnej i analizowano średnie procentowe zmiany oznaczanych parametrów.

Wprowadzenie Devrinolu 450 SC w ilości 0,5FD wywołało podwyższenie średniej aktywności katalazy około 3,5% w odniesieniu do gleby kontrolnej. Dawka polowa (1FD) nie wpłynęła istotnie na aktywność tego enzymu, podczas gdy dawki podwyższone działały inhibitująco: spadek średniej aktywności o 17% przy 2FD oraz o 31% przy 4 FD. Średnia aktywność oksydazy o-difenolowej po wprowadzeniu herbicydu we wszystkich dawkach była niższa niż w glebie kontrolnej. Stwierdzona inhibicja zwiększała się wraz ze wzrostem dawki herbicydu i wynosiła od 2% (0,5FD) do 13% (4FD). Natomiast wartości Eh w uległy zwiększeniu: w glebie dodatkiem Devrinolu 450 SC w ilościach 0,5FD, 1FD i 2FD zaobserwowane podwyższenie wahało się w granicach 5-7%, a w ilości 4FD wynosiło 2% w stosunku do gleby kontrolnej.

Określenie rodzaju interakcji pomiędzy oddziaływaniem selenu oraz węglowodorów monoaromatycznych na aktywność oksydazy o-difenolowej w glebie

MICHAŁ STREK, ARKADIUSZ TELESIŃSKI

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii,
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin
e-mail: michal.strek@zut.edu.pl

Słowa kluczowe: oksydaza o-difenolowa, selen, benzen, toluen, ksylen, współczynniki oddziaływania, gleba

Węglowodory monoaromatyczne (benzen, toluen, etylobenzen oraz ksylen) są obecne w wielu produktach ropopochodnych, znajdujących się w bliskim otoczeniu człowieka: benzynie, oleju napędowym, paliwie lotniczym, smarach, rozpuszczalnikach, czy zużytych olejach silnikowych. Ponadto węglowodory te, ze względu na relatywnie wysoką rozpuszczalność w wodzie, wykazują dużą mobilność w wodzie gruntowej i glebie, zanieczyszczając tym samym środowisko przyrodnicze. Monoaromaty, obok wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych są wśród związków chemicznych, obecnych w ropie naftowej i produktach petrochemicznych, są najbardziej toksyczne i kancerogenne.

Duże nagromadzenie substancji naftowych spowalnia vegetację, a w skrajnych przypadkach prowadzi do obumierania roślin poprzez zahamowanie pobierania wody, soli mineralnych, substancji odżywczych oraz tlenu. Stąd też, konieczne jest usuwanie tych związków ze środowiska naturalnego.

Do głównych enzymów uczestniczących w rozkładzie substancji ropopochodnych należą oksydoreduktazy, m.in.: dioksygenazy, peroksydazy, monooksygenazy oraz oksydazy polifenolowe. Efektem ich działania jest przeprowadzenie lipofilnego związku toksycznego w formę bardziej dostępną (często z otwartym pierścieniem aromatycznym) dla dalszych etapów rozkładu. Aromatyczne ksenobiotyki poddawane są, w wyniku działania oksydaz polifenolowej, reakcjom oksydacji, hydroksylacji i dalszego utleniania aż do wytworzenia chinonów, które mogą być wbudowywane w próchniczno-podobne molekuly.

Pierwiałkiem wykazującym silne właściwości oksydoredukcyjne jest selen. Dotychczasowe doniesienia naukowe z tego zakresu skupiają się w głównej mierze nad możliwością zwiększenia tolerancji na wysokie zawartości tego pierwiastka w glebie lub też zwiększenia ilości gromadzonej przez rośliny w częściach zielonych. Badania biologii gleby również skupiają się w głównej mierze na niwelowaniu negatywnego wpływu zbyt wysokiego stężenia selenu w glebie. Faktem jednak jest, iż większość gleb polski cechuje hiposelenoza czyli zbyt niskie jego stężenie w stosunku do stwierdzonej optymalnej ilości. Zgodnie z badaniami mówiącymi o niezbędności Se w przypadku aktywności enzymatycznej oraz przepuszczalności błon komórkowych można wysnuć hipotezę, iż odpowiednia ilość oraz dobranie formy i stopnia utlenienia może wpłynąć na zmianę biologicznej aktywności gleby. Efektem takiego przebiegu doświadczenia powinna być zmiana sprawności metabolicznej mikroorganizmów glebowych, skutkiem czego jest zmiana czasu trwania rozkładu ksenobiotyków.

Celem podjętych badań było określenie rodzaju oddziaływań pomiędzy wpływem węglowodorów monoaromatycznych i selenu (na dwóch stopniach utlenienia) na aktywność oksydazy o-difenolowej.

Doświadczenie przeprowadzono w laboratorium Katedry Fizjologii Roślin i Biochemii Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, na próbkach gleby pobranych z poziomu ornopróchicznego gleb brunatno-rdzawych RSD w Lipniku (woj. zachodniopomorskie). Gleby te charakteryzują się składem granulometrycznym piasku gliniastego oraz zawartością C_{org} 0,87%.

Do części ziemistych wprowadzono wybrane węglowodory aromatyczne w ilościach granicznych dla gleby na głębokości 0-30 cm na terenach przemysłowych (benzen – $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, toluen – $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ksylen – $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), podanych w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 roku w sprawie standardów jakości gleby i standardów jakości ziemi (Dz.U. 2002 nr 165, poz. 1359). Dodano również selenu na dwóch stopniach utlenienia: +IV i +VI, w postaci H_2SeO_3 oraz H_2SeO_4 . Ilość wprowadzonego selenu wynosiła $0,05 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$. Wilgotność próbek doprowadzono do 60% m.p.w. i po jednej godzinie oznaczono w nich spektrofotometrycznie aktywność oksydazy o-difenolowej, stosując jako substrat katechol i prolinę.

Otrzymane wartości rzeczywiste aktywności oksydazy o-difenolowej przeliczono w stosunku do gleby kontrolnej (bez dodatku węglowodorów i selenu) i podano jako procent kontroli. Następnie obliczono współczynniki oddziaływania (I) według wzoru: $I = AC_w + AC_{Se}$, gdzie AC_w = aktywność węglowodoru w mieszaninie / indywidualna aktywność węglowodoru; AC_{Se} = aktywność selenu w mieszaninie / indywidualna aktywność selenu. Współczynnik oddziaływania równy 1 oznacza, że oddziaływanie między składnikami mieszaniny jest addytywne. W przeciwnym razie mówimy o synergizmie ($I > 1$) lub antagonizmie ($I < 1$). W badaniach przyjęto, że w przedziale 0,9-1,1 mamy do czynienia z efektem addytywnym.

Zanieczyszczenie gleby benzenem, toluenem oraz ksylenem spowodowało kilkuprocentową stymulację aktywności oksydazy o-difenolowej. Podwyższenie aktywności enzymu stwierdzono również w glebie z dodatkiem Se+VI (o 11%), podczas gdy w glebie z Se+IV aktywność była o 7% niższa niż w glebie kontrolnej.

Obliczone współczynniki oddziaływania wskazują we wszystkich przypadkach na addytywny charakter oddziaływania między selenem a węglowodorami monoaromatycznymi. Otrzymane wartości I w przypadku węglowodorów i Se+IV wynosiły 1,03-1,07, a w przypadku węglowodorów i Se+VI 0,94-1,01.

Badanie adsorpcji jonów Cr(VI) na biowęglach

A. TYTLAK¹, P. OLESZCZUK¹, R. DOBROWOLSKI²

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Chemii, ¹Zakład Chemii Środowiskowej,

²Zakład Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej,

Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

aleksandra0989@gmail.com

Słowa kluczowe: Adsorpcja, chrom, biowęgle, fitotoksyczność

Chrom w środowisku występuje w dwóch formach specjacyjnych, jako Cr(III) oraz Cr(VI), które to formy różnią się między sobą mobilnością, biodostępnością oraz toksycznością. Cr(VI), w przeciwieństwie do Cr(III), jest mobilną, kancerogenną oraz cechującą się dużą biodostępnością formą tego pierwiastka.

Związki chromu są szeroko wykorzystywane w przemyśle, np. w metalurgii, garbarstwie, przy produkcji farb i lakierów. Jako zanieczyszczenia przedostają się do gleb i wód naturalnych, następnie z wodą pitną przenikają przez błony komórkowe, co w konsekwencji skutkuje włączeniem ich do łańcucha pokarmowego ssaków. Biorąc pod uwagę odmienne właściwości form specjacyjnych tego pierwiastka i ich wpływ na organizmy żywe, oznaczanie, immobilizacja oraz neutralizacja zanieczyszczeń chromem i jego związkami chemicznymi stały się nadrzędnym celem wielu badań.

Istotne zagadnienie stanowi również monitorowanie zawartości tego pierwiastka zarówno w środowisku jak i w miejscach pracy. Niska zawartość chromu i jego związków w próbkach środowiskowych, różnorodność interferentów oraz skomplikowana matryca najczęściej utrudniają przeprowadzenie bezpośredniego oznaczenia za pomocą dostępnych technik analitycznych. Stąd konieczność wprowadzenia dodatkowego etapu przygotowania próbki jakim jest wzbogacanie lub też oddzielenie chromu od matrycy.

W celu wzbogacenia jonów Cr(VI) lub też zmniejszenia jego toksyczności można wykorzystać między innymi sorpcję na materiałach porowatych. Ze względu na wysoki stopień porowatości, dobrze rozwiniętą powierzchnię właściwą, mikroporowatą strukturę oraz znaczną pojemność adsorpcyjną najczęściej stosowanymi sorbentami są węgle aktywne. Istotnym czynnikiem decydującym o zastosowaniu danego sorbentu jest jego cena oraz dostępność na szeroką skalę. Stąd istnieje konieczność opracowania nowych tańszych sorbentów jakimi są biowęgle. Materiały te wytwarzane są w procesie pirolizy biomasy w warunkach stosunkowo niskich temperatur (<700°C) oraz ograniczonego dostępu tlenu. Niski koszt produkcji, duża powierzchnia właściwa oraz wysoka pojemność sorpcyjna w odniesieniu do jonów metali ciężkich czyni te materiały atrakcyjną alternatywą dla węgli aktywnych.

W niniejszej pracy oszacowano perspektywy wykorzystania procesu adsorpcji jonów Cr(VI) na otrzymanych z biomasy materiałach węglowych w procesie ich immobilizacji oraz wzbogacania. Badane sorbenty zostały otrzymane ze słomy (BCS) oraz wikliny (BCW) w procesie pirolizy. W celu określenia optymalnych warunków procesu adsorpcji zbadano wpływ pH na adsorpcję oraz kinetykę adsorpcji. Ponadto, wyznaczono izotermę adsorpcji jonów Cr(VI) na uzyskanych biowęglach, a także określono wpływ jonów chlorkowych i azotanowych(V) na zdolność adsorpcyjną badanych materiałów. Zbadano również stopień desorpcji chromu z powierzchni adsorbentów węglowych w funkcji stężenia kwasu azotanowego(V) i kwasu chlorowodorowego. Do oznaczeń wykorzystano technikę absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją w płomieniu (F AAS). W ramach badań analizowano fitotoksyczność wód przed i po procesie oczyszczania na badanych biowęglach. Dodatkowo

oceniano fitotoksyczność biowęgla z zaadsorbowanym na nich chromem przy zastosowaniu testu Phytotoxkit FTM. Jako roślinę testową stosowano *Lepidium sativum*.

Badania pilotażowe toksyczności pyłu zawieszonego PM10

AGNIESZKA BEŚ*, ALEKSANDER ASTEL**, KAZIMIERZ WARMIŃSKI*, PIOTR PERLIŃSKI***

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Katedra Toksykologii Środowiska, ul. Prawocheńskiego 17, 10-720 Olsztyn,

** Akademia Pomorska w Słupsku, Instytut Biologii i Ochrony Środowiska, Zakład Chemii Środowiskowej, ul. Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk

*** Akademia Pomorska w Słupsku, Instytut Biologii i Ochrony Środowiska, Zakład Biologii Eksperymentalnej, ul. Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk
e-mail: agnieszka.bes@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: pył PM10, toksyczność próbek powietrza, Ostracodtoxkit F, Heterocypris incongruens, Microtox, Vibrio fischeri.

Toksyczne zanieczyszczenia występują w powietrzu atmosferycznym w fazie gazowej, stałej i rzadziej ciekłej. W ostatnich latach największym problemem jakości powietrza na terenach zurbanizowanych jest zanieczyszczenie pyłem zawieszonym. Z punktu widzenia szkodliwości dla człowieka znaczenie mają cząstki mniejsze od 10 µm przenikające do układu oddechowego (frakcja PM10), a wśród nich wyróżniona frakcja PM2.5 (<2,5 µm), przenikająca nawet do krwioobiegu. Pyły mają skomplikowany i niestály skład chemiczny zależny od źródeł zanieczyszczeń oraz od warunków meteorologicznych. W skład pyłu zawieszonego mogą wchodzić takie grupy substancji toksycznych jak: związki metali ciężkich oraz substancje organiczne w tym kancerogenne trwałe związki organiczne TZO (wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, polichlorowane bifenyle, polichlorowane dibenzodiodksyny i dibenzofurany i inne). W skład pyłów wchodzi również mniej szkodliwe związki jak: tlenki i sole metali alkalicznych (głównie w postaci siarczanów (VI), azotanów (V), chlorków) i długołańcuchowe węglowodory alifatyczne. Analiza pełnego składu chemicznego pyłów zawieszonych w powietrzu, zwłaszcza w zakresie TZO, jest skomplikowana z uwagi na złożony skład i niewielkie próbki analityczne. Zgodnie z europejskimi unormowaniami prawnymi obowiązek oznaczania substancji szkodliwych w pyłach PM10, w ramach państwowego monitoringu środowiska, dotyczy tylko benzo(a)pirenu oraz niektórych metali ciężkich (Pb, As, Cd, Ni). Z tych też powodów celowym jest wykonywanie pomiarów ogólnej toksyczności tych zanieczyszczeń pobranych bezpośrednio z powietrza.

Celem badań było wstępne określenie przydatności dwóch testów w ocenie toksyczności pyłu zawieszonego PM10 pobranego z powietrza na terenie miejskim.

Do badań wybrano test Ostracodtoxkit (MicroBioTests Inc.) wykorzystujący reakcję małżoraczków *Heterocypris incongruens* oraz system Microtox (Modern Water Inc) - najbardziej znany i rozpowszechniony system wykorzystujący wrażliwość bakterii luminescencyjnych *Vibrio fischeri* na szereg zanieczyszczeń. Test Ostracodtoxkit jest typowym testem kontaktowym wykorzystywanym w ocenie toksyczności próbek stałych (gleby, osady, odpady) bez ich przeprowadzania do roztworu. W związku z tym postawiono hipotezę, że będzie również odpowiedni w badaniach toksyczności pyłów PM10. Test Microtox jest odpowiedni do próbek wodnych klarownych i z niewielką zawiesiną.

Punkt poboru próbek zlokalizowany jest na terenie miasteczka akademickiego UWM w Olsztynie, w dzielnicy Kortowo, w pobliżu jeziora Kortowskiego (położenie geograficzne: 53° 45' 36" N, 20° 27' 7" E). Pył zawieszony PM10 pobierano na filtry z mikrowłókien szklanych GF8 o średnicy 47 mm (Whatman) za pomocą pobornika pyłu PNS-15D (Atmoservice, Poznań) wyposażonego z głowicę separacyjną PM10. Pobór próbki odbywał

się zgodnie z normą EN 12341. Przepływ powietrza wynosił 2,3 m³/h, pobór pojedynczej próbki trwał 1 dobę (od północy do północy).

Do badań pilotażowych z wykorzystaniem Ostracodtoxkit wybrano cztery próbki pyłu PM10 pobrane w okresie letnim i zimowym. Filtry z pobranym pyłem rozcierano i przenoszono ilościowo do roztworu standardowej pożywki. Do każdego dołka testowego wprowadzano osad kontrolny dostarczany w zestawie testowym oraz sporządzoną zawiesinę, a w obiekcie kontrolnym - osad kontrolny i pożywkę. Długość ciała małżoraczków na początku testu i po 6 dniach mierzono metodą analizy obrazu z mikroskopu Nikon Eclipse E100 programem Lucia 5.0.

Do oceny toksykologicznej z wykorzystaniem systemu Microtox próbki przygotowywano dwiema metodami:

1). ekstrakcja dichlorometanem (SupraSolv[®], Merck) w łaźni ultradźwiękowej (2x30 min.), następnie ekstrakty odparowano w strumieniu argonu, pozostałość rozpuszczono w sulfotlenku dimetylu (DMSO) i dodano H₂O dejonizowanej (1:9 v/v).

2). sporządzenie zawiesiny wodnej roztartego filtra wraz z pyłem PM10.

Próbki pyłu pochodziły z okresu letniego i zimowego (po 10 czterodniowych próbek).

Na podstawie wykonanych badań można stwierdzić, że test Ostracodtoxkit jest obiecującym testem oceny toksyczności pyłu zawieszonego w powietrzu PM10. Próbkę pyłu z okresu letniego charakteryzowały się mniejszą toksycznością dla *Heterocypris incongruens* w porównaniu do pyłów z okresu zimowego (tab. 1). Różnice wynikają prawdopodobnie ze stężenia pyłu w powietrzu, jak i z jego składu chemicznego. Badania obejmowały również określenie możliwości wykorzystania systemu Microtox w badaniach toksyczności pyłów. Na podstawie wstępnych badań stwierdzono, że sposób przygotowania próbki ma decydujący wpływ na uzyskiwane wyniki. Wykorzystując wodną zawiesinę pyłów z roztartym filtrem napotyka się na problem ze znaczną mętnością próbki, powodującą osłabienie sygnału. Z kolei wykorzystując ekstrakty rozpuszczalnikowe należy wziąć pod uwagę toksyczność rozpuszczalników. Na podstawie danych literaturowych można stwierdzić, że najmniej toksycznym jest DMSO, jednak należy stosować jego wysoką czystość. W toku badań natknięto się na toksyczne oddziaływanie DMSO w czystości cz.d.a. na bakterie *Vibrio fischeri*. Badania są na etapie wstępnym i będą kontynuowane w celu określenia optymalnych warunków przygotowania próbek i wykonywania testów.

Tab. 1. Wstępne wyniki badań toksyczności pyłów dla *Heterocypris incongruens*

Obiekt	N	Śmiertelność [%]	Długość ciała po 6 dniach* [μm]	Przyrost długości po 6 dniach [μm]	Hamowanie przyrostu ciała [%]
Kontrolny	6	11,7	627,2	354,2	-
Filtr z PM10 - okres letni (L1)	3	20,0	346,0	73,0	79,4
Filtr z PM10 - okres letni (L2)	3	33,3	296,3	23,3	93,4
Filtr z PM10 - okres zimowy (Z1)	3	93,3	**	**	**
Filtr z PM10 - okres zimowy (Z2)	3	96,7	**	**	**

Objaśnienia do tabeli 1: *L1 - z 05.06.2013, L2 - z 30.07.2013, Z1 - z 19.12.2013, Z2 - z 20.12.2013.

* Średnia długość ciała na początku testu 273 μm.

** Zbyt mała liczba żywych organizmów (1-2), aby pomiary długości były miarodajne.



Zadanie współfinansowane ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego

Wykorzystanie testów enzymatycznych do wyznaczania parametrów modelu DEB dla *Daphnia magna*

K. MATYJA, K. GRABAS

Politechnika Wrocławska, Instytut Inżynierii Ochrony Środowiska,
Wybrzeże S. Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław
konrad.matyja@pwr.edu.pl

Słowa kluczowe: *Dynamic Energy Budget*, rozwielitka, *Daphnia magna*, łańcuch oddechowy, aktywność dehydrogenaz, toksyczność

Teoria Dynamic Energy Budget (DEB) poświęcona jest zagadnieniom związanym z energią, którą każdy żywy organizm pobiera ze środowiska i wykorzystuje na procesy podtrzymania życia, wzrostu i rozmnażania. Model DEB opisuje szybkość tych procesów uwzględniając zależności pomiędzy nimi. Pozwala to na ścisłą i matematyczną interpretację związków zachodzących pomiędzy np. szybkością poboru pożywienia a szybkością wzrostu lub wykorzystaniem energii na procesy podtrzymania życia a inhibicją rozmnażania. W porównaniu do tradycyjnej analizy danych z testów ekotoksykologicznych, analiza zmian parametrów modelu DEB może dostarczyć znacznie większej ilości informacji w szczególności o powiązaniach efektów toksycznych obserwowanych na różnych poziomach organizacji (molekularnym, osobniczym, populacyjnym) oraz o zmianach ich wielkości w czasie. Równia modelu DEB wykorzystywane w ekotoksykologii najczęściej opisują energię

w postaci bezwymiarowej a proporcje pomiędzy energią zgromadzoną w strukturach (nie podlegających przemianom metabolicznym) organizmu a energią pochodzącą z rezerw (podlegającym przemianom metabolicznym) są często niejasne i trudne do uchwycenia. W związku z powyższym narzędzie służące do kalibracji modelu, a więc do ilościowej oceny przepływu energii przez organizm wydaje się być pomocne w analizie zmian parametrów modelu. Naprzeciw tym potrzebom wychodzi znana od wielu lat metoda oceny aktywności dehydrogenaz łańcucha oddechowego. Wykorzystywane w niej sole tetrazolowe są redukowane do barwnych produktów a intensywność zabarwienia próbki po odpowiednio dobranym czasie jest proporcjonalna do szybkości transportu elektronów pomiędzy kolejnymi przekąźnikami. W łańcuchu oddechowym łączą się wszystkie szlaki metaboliczne. Ostatnim redukowanym substratem (w warunkach bez soli tetrazolowych) jest tlen cząsteczkowy. Szybkość jego redukcji może zostać w łatwy sposób przeliczona na ilość wykorzystanej przez organizm energii w jednostce czasu na procesy metaboliczne. W odniesieniu do teorii DEB pozwala to na obliczenie różnicy i proporcji pomiędzy energią zgromadzoną w strukturach (przy znajomości masy i budowy organizmu) a energią przeznaczoną na procesy metaboliczne. Ponadto pomiar szybkości transportu elektronów w łańcuchu oddechowym może być pomocny w ilościowej analizie przepływu energii wykorzystywanej na procesy podtrzymania życia, wzrost i rozmnażanie. Z kolei zmiany ilości energii przeznaczonej na wymienione procesy mogą zostać z powodzeniem potraktowane jako efekt

działania substancji toksycznej. Tak zdefiniowany efekt toksyczny co całościowa, łącząca wymienione procesy, zależna od czasu odpowiedź organizmu.

Znane metody oceny szybkości transportu elektronów w łańcuchu oddechowym rozwielitki *Daphnia magna* zakładają zabicie i homogenizację organizmów a następnie dodanie soli terazolowych i przeprowadzeniu pomiarów. W niniejszej pracy podjęto próbę zmierzenia aktywności dehydrogenaz żywych rozwielitek. W związku z tym przeprowadzono kilka testów uwzględniających rozmiary (wiek) organizmów testowych oraz stężenie soli tetrazolowej (optymalne, pomiędzy stężeniem nie pozwalającym na wytworzenie wystarczającej ilości barwnego produktu a stężeniem działającym toksycznie). Wyniki uzyskane z pomiarów aktywności dehydrogenaz przeliczono na ilość wykorzystanej energii w procesach metabolicznych i odniesiono do modelu Dynamic Energy Budget.